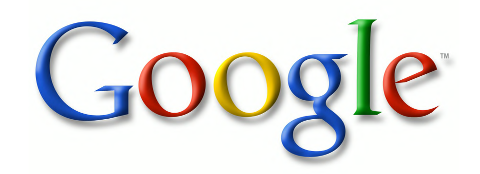


This is a digital copy of a book that was preserved for generations on library shelves before it was carefully scanned by Google as part of a project to make the world's books discoverable online.

It has survived long enough for the copyright to expire and the book to enter the public domain. A public domain book is one that was never subject to copyright or whose legal copyright term has expired. Whether a book is in the public domain may vary country to country. Public domain books are our gateways to the past, representing a wealth of history, culture and knowledge that's often difficult to discover.

Marks, notations and other marginalia present in the original volume will appear in this file - a reminder of this book's long journey from the publisher to a library and finally to you.

Usage guidelines

Google is proud to partner with libraries to digitize public domain materials and make them widely accessible. Public domain books belong to the public and we are merely their custodians. Nevertheless, this work is expensive, so in order to keep providing this resource, we have taken steps to prevent abuse by commercial parties, including placing technical restrictions on automated querying.

We also ask that you:

+ *Make non-commercial use of the files* We designed Google Book Search for use by individuals, and we request that you use these files for personal, non-commercial purposes.

+ *Refrain from automated querying* Do not send automated queries of any sort to Google's system: If you are conducting research on machine translation, optical character recognition or other areas where access to a large amount of text is helpful, please contact us. We encourage the use of public domain materials for these purposes and may be able to help.

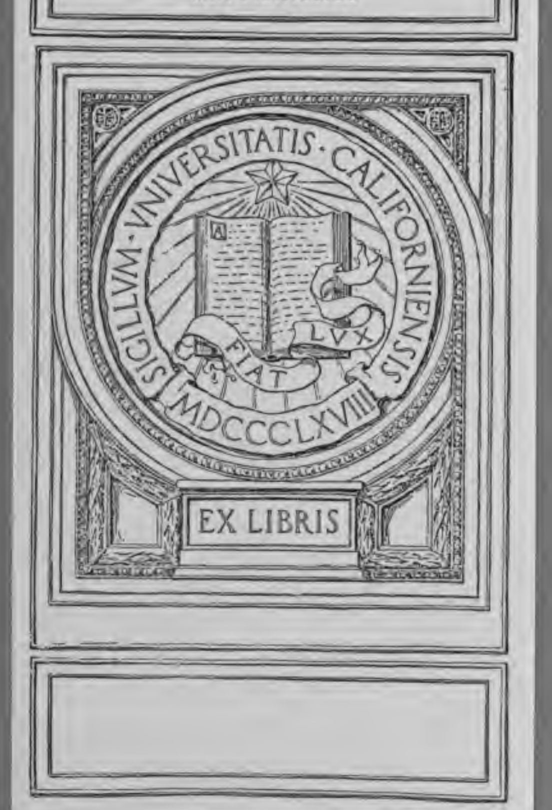
+ *Maintain attribution* The Google "watermark" you see on each file is essential for informing people about this project and helping them find additional materials through Google Book Search. Please do not remove it.

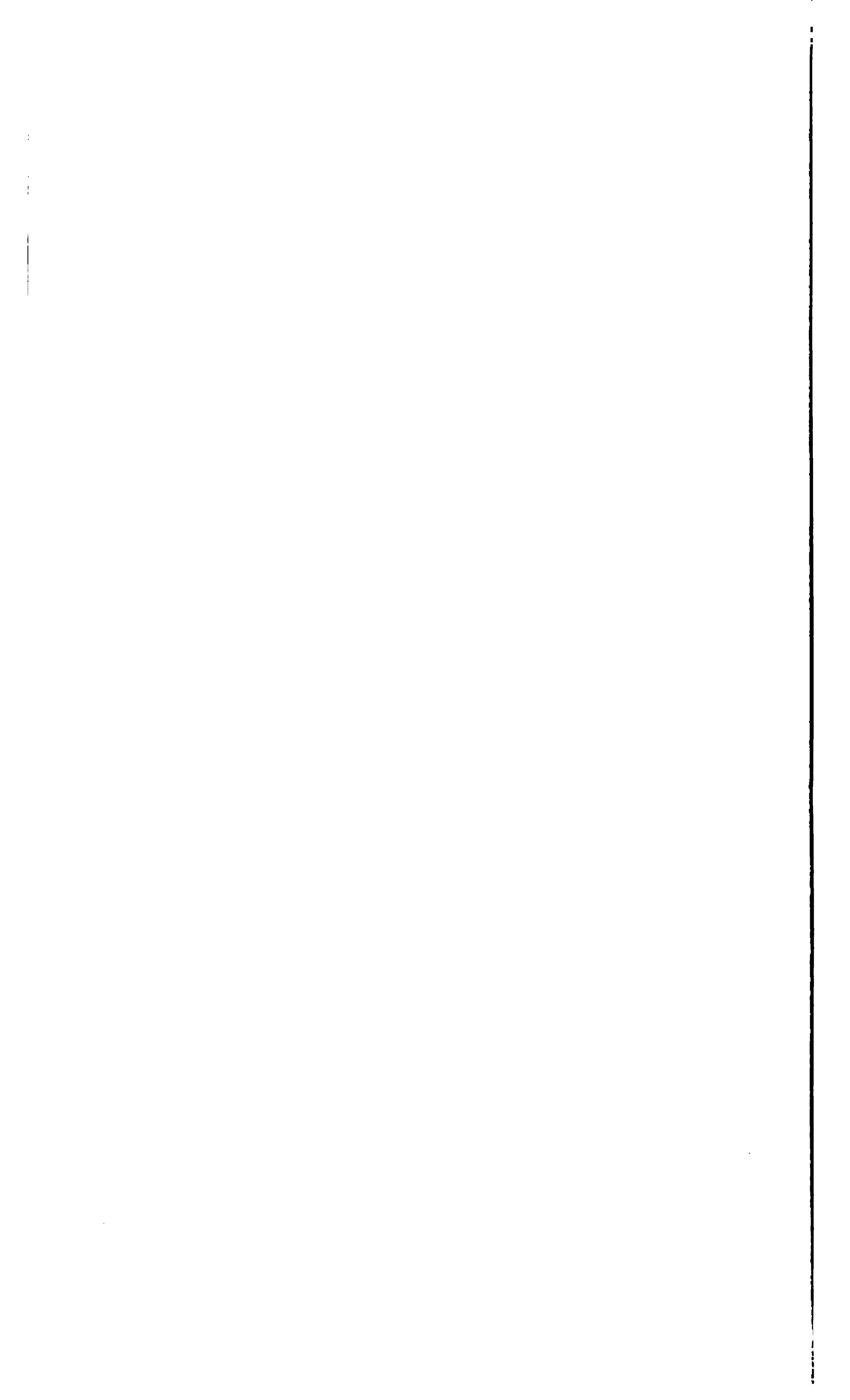
+ *Keep it legal* Whatever your use, remember that you are responsible for ensuring that what you are doing is legal. Do not assume that just because we believe a book is in the public domain for users in the United States, that the work is also in the public domain for users in other countries. Whether a book is still in copyright varies from country to country, and we can't offer guidance on whether any specific use of any specific book is allowed. Please do not assume that a book's appearance in Google Book Search means it can be used in any manner anywhere in the world. Copyright infringement liability can be quite severe.

About Google Book Search

Google's mission is to organize the world's information and to make it universally accessible and useful. Google Book Search helps readers discover the world's books while helping authors and publishers reach new audiences. You can search through the full text of this book on the web at http://books.google.com/

UNIVERSITY OF CALIFORNIA
MEDICAL CENTER LIBRARY
SAN FRANCISCO







ZEITSCHRIFT

für

PHYSIOLOGISCHE CHEMIE

unter Mitwirkung von

Prof. E. BAUMANN in Freiburg, Prof. GÄHTGENS in Giessen, Prof. O. HAMMARSTEN in Upsala, Prof. HÜFNER in Tübingen, Prof. HUPPERT in Prag, Prof. JAFFE in Königsberg, Prof A. KOSSEL in Berlin, Prof. E. LUDWIG in Wien und Prof. E. SCHULZE in Zürich

herausgegeben von

F. HOPPE-SEYLER,
Professor der physiologischen Chemie an der Universität Strassburg.

NEUNZEHNTER BAND.

Mit zwei Holzschnitten und zwei Tafeln.

STRASSBURG
VERLAG VON KARL J. TRÜBNER
1894.



Inhalt des neunzehnten Bandes.

Ueber die fractionirte Krystallisation des Eieralbumins.

Von

St. Bondzyński und **L. Zoja.**

(Aus dem Laboratorium von Professor Bunge in Basel.)
(Der Redaction zugegangen am 16. December 1893.)

Der Eiweissstoff des Hühnereies war seit einer Reihe von Jahren Gegenstand zahlreicher Untersuchungen gewesen. Es fehlt auch nicht an Bemühungen, ihn von fremden Stoffen zu befreien und in reinem Zustande zu analysiren. Würtz hat zu diesem Zwecke die Fällung mit Bleiessig benützt, Starke mit Natriumsulfat, Hofmeister mit Ammoniumsulfat. Alle diese Fällungen geben Niederschläge, welche nach Entfernung des Fällungsmittels ein in Wasser lösliches Eiweiss liefern. Es ist also nicht anzunehmen, dass bei diesem Verfahren ein tieferes Eingreifen in das Molekül des Eiweissstoffes stattfinden konnte. Wenn wir aber die Zusammensetzung dieser Präparate, sowie jener von Dumas und Cahours, Lieberkühn, Harnack und Schützenberger[1]) nach anderen Methoden erhaltenen, mit einander vergleichen, so finden wir in dieser Reihe Kohlenstoffzahlen, welche zwischen

[1]) Schützenberger's Eiweiss wurde einfach durch Coagulation und Entfetten des Coagulums erhalten.

39512

52,25 und 54,0 % [1]), Stickstoffzahlen, welche zwischen 15,0 % und 16,6 %, und einen Schwefelgehalt, welcher zwischen 1,0 % und 1,99 % sich bewegt, also Schwankungen, welche nicht gern auf analytische Fehler zurückgeführt werden, so dass man unwillkürlich die Anwesenheit mehrerer Eiweissstoffe von verschiedener Zusammensetzung vermuthet. Obgleich den genannten Forschern — Hammarsten [2]), Hofmeister und Harnack ausgenommen — zur Analyse ein Gemisch von Albumin und Globulin vorlag und uns die Kenntniss der Zusammensetzung des Eierglobulins fehlt, so musste man doch bei dem nicht hohen Globulingehalt des Eiereiweisses in erster Linie an die Möglichkeit verschiedener Albumine denken.

Wir haben uns zur Aufgabe gestellt, zur Lösung dieser Frage die Krystallisationsversuche von Hofmeister [3]) herbeizuziehen. Daneben wollten wir diese Methode auf ihre Anwendbarkeit und Ausdehnung prüfen mit dem Bewusstsein, dass die Möglichkeit der Beschaffung grösserer Menge eines durch Krystallisation individualisirten Eiweisskörpers einen grossen Fortschritt in der Erforschung der chemischen Natur der Eiweissstoffe bedeutet. Dies ist auch zugleich der Grund, dass wir es nicht für überflüssig halten, diesen Theil unserer Arbeit, welcher sich auf die Darstellung der zu analysirenden Präparate bezieht, etwas ausführlicher zu beschreiben.

8000 cbcm. Eiereiweiss, welches aus frischen Hühnereiern unter sorgfältiger Trennung vom Eigelb erhalten wurde, wurden gut geschlagen und die vom Schaum getrennte Flüssigkeit mit dem gleichen Volum einer gesättigten Ammoniumsulfatlösung versetzt; von ausgefälltem Globulin wurde filtrirt, das Filtrat, welches ziemlich intensiv fleischroth gefärbt war, wurde in nicht allzu dünner Schicht in Krystallisationsschalen der Verdunstung ausgesetzt. Schon nach wenigen

---

[1]) Den Kohlenstoffgehalt 54,0 % hat Brittner gefunden, s Beilstein's Handbuch der Org. Ch., 2. Aufl., Bd 3, S. 1264.

[2]) S. die Arbeit von Starke: «Beiträge zur Kenntniss des Serum- und Eieralbumins», Jahr. über die F. d. Th., Bd. 11 (1881).

[3]) Hofmeister: Ueber krystallisirtes Eieralbumin. Diese Zeitschr., Bd. 14, S. 165, und Bd. 16, S. 187.

Tagen begann die Trübung. Nach 13 Tagen waren der Boden und die Wand des Gefässes mit einer reichlichen Ausscheidung bedeckt, welche wie aus delicaten weichen Warzen bestehend an der Gefässwand haftete, sowie die Oberfläche der Flüssigkeit bedeckte. Die mikroskopische Untersuchung ergab Sphären von verschiedener Grösse, an welchen keine krystallinische Structur zu erkennen war. Es wurde mit Hilfe der Saugpumpe filtrirt. Das Filtrat war eine gelbe Flüssigkeit, der Niederschlag stellte einen festen Kuchen von rosarother oder fleischrother Farbe dar, welcher etwa 80 gr. wog.

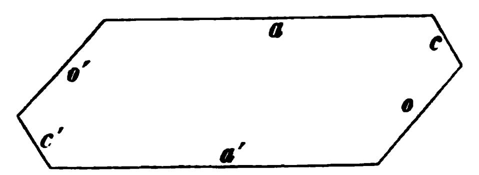
Er wurde in eine $^1/_2$ gesättigte Ammoniumsulfatlösung gebracht. Ein Theil löste sich darin und lieferte eine röthliche Flüssigkeit, während ein anderer als unlöslicher, weisser Rückstand zurückblieb. Dieser wurde in Wasser gelöst und mit der gesättigten Ammoniumsulfatlösung so lange versetzt, bis eine deutliche Trübung entstand. Von beiden Lösungen wurden klare Filtrate erhalten, welche wieder der freien Verdunstung überlassen wurden. Um dem Leser das Verfolgen der Einzelheiten zu erleichtern, wollen wir diesen Versuch mit A bezeichnen, den in $^1/_2$ gesättigter Ammoniumsulfatlösung löslichen Theil mit Ab, den anderen in Wasser gelösten Aa, und die beim Umkrystallisiren erhaltenen Fractionen der Reihe nach mit Nummern versehen. Nach einigen Tagen wurde in der Lösung Aa eine reichliche Ausscheidung beobachtet, welche bei mikroskopischer Untersuchung neben den früher beobachteten Kugeln zahreiche tyrosinähnliche Sphären von nadelförmigen Krystallen aufwies.

Der Niederschlag wurde von der Mutterlauge auf einem Filter mit der Saugpumpe getrennt (er wog etwa 30 gr.), in Wasser (etwa 120 cbcm.) gelöst, mit der gesättigten Ammoniumsulfatlösung bis zur constanten Trübung versetzt, die Trübung mit einigen Tropfen Wasser zum Verschwinden gebracht und das klare Filtrat (Aa_2) in der Krystallisationsschaale stehen gelassen. Nach 4 Tagen gab es eine Ausscheidung, welche aus lauter vereinzelten oder zu Drusen vereinigten Krystallen bestand. Das Bild zeigte eine so homogene Krystallmasse, dass dieselbe zur Analyse bestimmt wurde.

Das nach dem Schütteln mit $^1/_2$ gesättigter Ammoniumsulfatlösung erhaltene Filtrat Ab_1 gab bald einen nicht geringen Bodensatz; derselbe war röthlich gefärbt, enthielt aber ebenfalls neben den Kugeln zahlreiche nadelförmige Krystalle. Die Ausscheidung wurde filtrirt und noch einmal mit $^1/_2$ gesättigter Ammoniumsulfatlösung geschüttelt, wobei Alles bis auf einen sehr geringen Rückstand gelöst wurde. Das fast vollständig farblose Filtrat (Ab_2) gab nach 6 Tagen eine Ausscheidung, welche eine homogene weisse Krystallmasse war. Das Präparat (Ab_2) wurde ebenfalls zur Analyse aufgehoben.

Ein anderer Versuch wurde mit Eiweiss aus 200 frischen Eiern angestellt. Das Arbeitsverfahren war das gleiche. Die erste aus Eiweisssphären bestehende Ausscheidung wurde nach 14 Tagen filtrirt. Das Filtrat (Bf_2), eine hellgelbe Flüssigkeit, wurde einer weiteren Verdunstung überlassen. Der auf dem Filter zurückgebliebene röthliche Niederschlag wurde in Wasser gelöst (1100 cbcm.) und mit gesättigter Ammoniumsulfatlösung bis zur geringen Trübung versetzt (900 cbcm.). Die filtrirte röthliche Lösung (Ba_1) wurde stehen gelassen. Nach 10 Tagen wurde die Flüssigkeit, welche aus einem dicken Brei von Eiweisskugeln und Eiweisskrystallen bestand, zu festen Kuchen abgesaugt. Die feuchte Masse wog 1500 gr. Sie wurde in 2700 cbcm. der $^1/_2$ gesättigten Ammoniumsulfatlösung durch Umrühren gut vertheilt, 24 Stunden darin zurückgelassen, abgesaugt und noch einmal in derselben Weise mit 1500 cbcm. $^1/_2$ gesättigter Ammoniumsulfatlösung gewaschen. Schon beim ersten Auswaschen wurde ein allmäliges Schwinden der Kugeln bemerkt. Nach dem zweiten bestand der in der Lösung suspendirte, darin unlösliche Niederschlag ausschliesslich aus gut ausgebildeten, den Hämoglobinkrystallen (aus Pferdeblut) ähnlichen Säulen, während die Sphären vollständig gelöst worden waren. Nach dem Absaugen wog der unlösliche Krystallbrei 350 gr. Er wurde in Wasser gelöst (1500 cbcm.) und allmälig unter Umrühren die gesättigte Ammoniumsulfatlösung bis zu beginnender constanter Trübung hinzugefügt (1000 cbcm.). Nach 2 Tagen stellte die Lösung einen Brei von Krystallen dar.

Herr Dr. E. Artini, Docent in Pavia, welcher auf unsere Bitte hin die krystallographische Untersuchung der Krystalle gütigst übernommen hat, beschreibt sie folgendermassen:



«Es sind Täfelchen, deren Flächen höchstens 6 Seiten besitzen. Die Seiten C und C' fehlen manchmal. Die Messung der Supplementzirkel ergab:

für $a \wedge c = 71°$,
» $c \wedge o = 67°$,
» $o \wedge a' = 42°$.

Im polarisirten Lichte, bei gekreuzten Nicols untersucht, zeigen sie keine merkliche Doppelbrechung. Es ist anzunehmen, dass es sich um Krystalle des monoklinischen oder triklinischen Systems handelt».

Da diese Krystalle mit denen aus Harn von Byrom-Bramwell und Noël Paton[1]) erhaltenen Globulinkrystallen auffallende Aehnlichkeit zeigten und die Schwerlöslichkeit derselben in $^1/_2$ gesättigter Ammoniumsulfatlösung an etwa zurückgebliebenes Globulin denken liess, so wurden diese, sowie alle anderen in Ammoniumsulfat schwer löslichen Fractionen auf Globulin untersucht, es wurde aber weder beim Verdünnen mit Wasser und Durchleiten von Kohlensäure, noch bei Dialyse ein Globulinniederschlag bemerkt. Die Krystalle wurden zur Analyse aufbewahrt. Das Filtrat von der ersten Ausscheidung, die gelbe Mutterlauge Bf, gab nach 4 wöchentlichem Stehen eine bedeutende Menge eines aus Sphären bestehenden Präcipitats; dasselbe wurde in eine $^1/_2$ gesättigte Ammoniumsulfatlösung gebracht, worin es leicht und vollständig gelöst wurde. Die Lösung (Bf_2) wurde der Verdunstung überlassen. Es

---

[1]) Reports from the Laboratory of the Royal College of Physicians Edinburgh, Vol. IV (1892), S. 47.

wurde nach Verfluss eines Monats eine Ausscheidung erzielt, welche bei mikroskopischer Betrachtung durch und durch aus feinen Nädelchen bestehend sich erwies. Die vollkommen weissen Krystalle wurden von der Mutterlauge abgesaugt, mit $^2/_3$ gesättigter Ammoniumsulfatlösung nachgespült und lieferten uns auch ein Präparat zur Analyse (Bf_2). Mit dem Präcipität aus der Lösung Bf_1 war wohl alles Eiweiss auskrystallisirt. Die Mutterlauge davon gab beim Kochen nur eine unbedeutende Trübung, wohl aber beim Sättigen mit Ammoniumsulfat einen reichlichen, offenbar aus Hemialbumose bestehenden Niederschlag. Ob Hemialbumose im Eiereiweiss vorgebildet vorhanden ist oder während der längeren Dauer der Krystallisation entstanden, wollen wir nicht entscheiden. Der Befund müsste an besonders zuverlässig frischem Material wiederholt werden, wir erfahren aber nachträglich, dass vor Kurzem Salkowski[1]) Hemialbumose im Eiereiweiss gefunden hat.

Es sei noch ein dritter Versuch erwähnt, bei welchem gleichfalls mit einer grossen Eiweissmenge (2700 cbcm.) gearbeitet wurde. Nach 14 Tagen wurde ein röthlich gefärbter Niederschlag von der gelben Mutterlauge getrennt. Mit der zu festen Kuchen abgesaugten Eiweissmasse konnte ein Becherglas von 500 cbcm. bis zum Rande gefüllt werden. Bei der weiteren Behandlung wurden Präparate erhalten, welche neben Eiweisskrystallen Eiweisskugeln aufwiesen, da wir aber verhindert waren, die Krystallisation weiter zu verfolgen, gelangte keine von den Fractionen zur Analyse. Die gelbe Mutterlauge gab nach 4 Wochen eine neue Ausscheidung und ein gelbes, fast eiweissfreies, aber hemialbumosehaltiges Filtrat. Das Resultat dieses Versuches ist also die Bestätigung des früher Beobachteten.

Bei der Ausführung unseres Versuchsplanes haben wir uns die Erfahrung von Hofmeister, sowie von Gabriel[2]), welcher die Versuche von Hofmeister wiederholt hat, zu

[1]) Centralbl. f. medic. Wissenschaften, Jahrg. 1893, Nr. 30.

[2]) Diese Zeitschrift, Bd. 15: «Ueber die Eiweisskrystalle von Hofmeister».

Nutzen gemacht. Die von uns beobachteten Erscheinungen stimmen auch mit der Beschreibung unserer Vorgänger überein.

Die Kugeln wurden immer als Vorläufer der Krystalle beobachtet. Die Entwickelung des Vorganges kann man in allen Stadien zu Gesicht bekommen. Neben den kleinen Tröpfchen oder Körnchen sieht man Eiweisskugeln von verschiedenen Dimensionen. Die Eiweisskugeln, wenn sie eine gewisse Grösse erreicht haben, zuweilen schon bei der ersten Ausscheidung, häufiger nach einmaligem Auflösen, haben die Neigung, trüb zu werden, was besonders leicht zu bemerken ist, wenn das Objectiv des Mikroskopes unvorsichtig auf das Deckgläschen drückt. Grob mechanische Momente (Schütteln, Stossen) können sogar die Krystallisation zu Stande bringen. Als wir eine Probe eines Präparates, welches nur Eiweisskugeln enthielt, einem liebenswürdigen Bekannten nach Bern zur photographischen Aufnahme geschickt hatten, wurde dieselbe am dritten Tag in Bern zum grössten Theil aus Krystallen bestehend gefunden. Die strahlig schattirten Kugeln sind die directen Vorgänger der tyrosinähnlichen Sphäroide von Nadeln, welche weiter auch zu einzelnen Krystallen zerfallen. Also ein Bild, welches genau der Beschreibung von Hofmeister und Gabriel entspricht. Die mehrfache Behandlung mit Ammoniumsulfat, Auflösen und Verdunstenlassen befördert entschieden die Krystallisation. In der ersten Ausscheidung haben wir niemals Krystalle beobachtet. Ob dabei die Reinheit des Präparates eine Rolle spielt, bleibt dahingestellt. Wir sind geneigt, zu glauben, dass durch die wiederholte Behandlung mit Ammoniumsulfat eine krystallisationsfähige Anordnung der Moleküle stattfindet. Ob dieses auf einer Depolimerisation, wie es Gabriel haben will, oder etwa auf einer Anlagerung des Krystallwassers beruht, wollen wir nicht entscheiden. Es ist bemerkenswerth, dass die ammoniumsulfathaltigen Eiweisslösungen sich durch leichte Filtrirbarkeit auszeichnen; die Mutterlaugen unserer krystallinischen Präparate, sowie die wässerigen Lösungen der Krystalle liessen sich sehr rasch und klar filtriren. Es machte den Eindruck, als ob ein Stoff seine colloidalen Eigenschaften eingebüsst hat.

Höchstes Interesse in dieser Beziehung erregt aber die Beobachtung von Byrom-Bramwell und Noël Paton[1]), welche eine ungewöhnliche, ja erstaunliche Menge Eiweiss (7,5 gr. pr. 100 cbcm. Harn) in den Harn übergehen und direct aus dem Harn krystallisiren sahen. Es wäre denkbar, dass das Eiweiss schon im Blute seine colloidalen Eigenschaften eingebüsst hatte und dadurch leichter durch die Nierenkapillaren diffundiren konnte. Ob in diesem Fall der Salzgehalt[2]) des Blutes und des Harnes ein abnorm hoher war, konnte nicht untersucht werden.

Die von uns zur Analyse dargestellten krystallinischen Präparate sind Fractionen von verschiedenem Löslichkeitsvermögen gegenüber einer Ammoniumsulfatlösung. Die Präparate Aa_2 und Ba_2 sind die schwer löslichen, Ab_2 und Bf_2 die leicht löslichen Fractionen. Davon verdienen Ba_2 und Bf_2 besondere Beachtung, da sie in Bezug auf die Löslichkeit in $^1/_2$ gesättigter Ammoniumsulfatlösung die am weitesten von einander entfernten Fractionen[3]) darstellen.

Behufs Vorbereitung zur Analyse wurden die Krystalle von der Mutterlauge zu festen Kuchen abgesaugt, in Wasser gelöst, mit der 2—3fachen Menge 95proc. Alkohol gefällt, nach 24 Stunden die Flüssigkeit sammt dem Coagulum in mehrere Liter Wasser gegossen und so lange mit Wasser ausgewaschen, bis wir die Sicherheit gewonnen hatten, dass keine Spur Ammoniumsulfat am Eiweisscoagulum haften konnte. Zu dem Zwecke wurde nach jeder Filtration der Niederschlag vom Trichter[4]) in einen grossen Porzellanmörser gebracht und mit

---

[1]) Früher citirte Arbeit.

[2]) Aber auch Harnstoff, sowie harnsaures Natrium scheinen die Fähigkeit zu haben, diesen Process zu beeinflussen; Löwit hat sich des Harnstoffzusatzes bedient, um seine Globulinplättchen darzustellen. Löwit: Beiträge zur Lehre von der Blutgerinnung, Sitzungsber. d. Wien. Acad. d. Wiss., Bd. 90 (1884), S. 115.

[3]) Zur etwaigen Orientirung über das Verhältniss dieser Fractionen zu einander mag erinnert werden, dass zum Versuch B 5 Liter Eiweiss verwendet wurden und dass die Fraction Ba_1 — 62 gr., die Fraction $Bf._2$ — 14 gr. reines Eiweiss lieferte.

[4]) Statt Filtrirpapier wurden rund geschnittene Stückchen von feinem weissen seidenen Tuch benutzt.

geringer Wassermenge zu feinen Flocken zerrieben. Das Auswaschen wurde trotz dem Verschwinden der Schwefelsäurereaction im Filtrate noch einige Zeit fortgesetzt. Die Präparate waren schliesslich vollkommen schwefelsäurefrei[1]). Das Wasser wurde dann mit Alkohol verdrängt und darauf mit Aether nachgespült[2]).

Im lufttrockenen Zustande liess sich das grobkörnige Coagulum zu feinem schneeweissem Pulver leicht verreiben. Dieses wurde im Trockenkasten zwischen 107° und 110° C. so lange getrocknet, bis die zweite 5 Stunden nach der ersten erfolgte Wägung keine grössere Gewichtsabnahme als etwa 0,5 mgr. ergab. Dies erforderte zuweilen ein bis 80 Stunden dauerndes Trocknen (bei Anwendung von 5—6 gr. Substanz).

Die Analyse ergab folgende Mittelwerthe:

	Fraction Aa_2.	Fraction Ba_2.	Fraction Ab_2.	Fraction Bf_2.
C	52,44 %	52,33 %	52,39 %	52,07 %
H	7,26 »	7,13 »	6,95 »	6,98 »
N	15,58 »	15,47 »	15,11 »	15,29 »
S	—	1.614 »	1,700 »	1,693 »
O	—	23,48 »	23,85 »	23,97 »

Die früheren Forscher fanden bei der Analyse des Eieralbumins Folgendes:

	Hammarsten [3]) (Präparat von Starke).	Hammarsten [4]).	Harnack [5]).	Harnack [6]).	Löw [7]).	Hofmeister [8]).
C. . .	52,25 %	—	53,01	—	—	53,28
H . .	6,90 »	—	6,98	—	—	7,26
N . .	15,25 »	—	15,76	—	—	15,00
S. . .	1,93 »	1,67	1,39	1,91	1,7—1,8	1,09
O , .	23,67 »	—	22,86	—	—	23,37

[1]) Eine Probe wurde in Soda gelöst, mit Essigsäure angesäuert und das Filtrat auf Schwefelsäure geprüft.

[2]) Alkohol und Aether wurden zu diesem Versuche von uns selbst rectificirt, um die schwer flüchtigen Bestandtheile der Handelspräparate vollkommen zu entferuen.

[3]) Oben citirte Arbeit.

[4]) Diese Zeitschrift, Bd. 9.

[5]) Ebendaselbst, Bd. 5.

[6]) Ber. d. deutsch. Ch. Ges., Bd. 23 (1890), S. 90.

[7]) Jahresber. über die Fortschritte d. Chemie, 1883, S. 1383.

[8]) Diese Zeitschrift, Bd. 16.

Bei der Betrachtung unserer analytischen Resultate ergibt sich eine kleine Differenz im Stickstoffgehalte der schwerlöslichen und der leichtlöslichen Fractionen. Ferner wurde in beiden leicht löslichen Fractionen (Ab_2 und Bf_2) um ein geringes (0,08 %) mehr Schwefel gefunden als in der schwerlöslichen Fraction Ba_2, während die Kohlenstoffzahlen eine nahe Uebereinstimmung aufwiesen. Die beobachteten Differenzen liegen aber ziemlich innerhalb der zulässigen Fehlerschwankungen und gestatten nicht, einen Unterschied in der chemischen Zusammensetzung der einzelnen Fractionen zu befürworten. Die grossen Differenzen zwischen den früheren Analysen des Eiereiweisses bleiben unerklärt. Es ist nicht anzunehmen, dass die Resultate älterer Analysen durch den Globulingehalt der Präparate beeinflusst wurden, denn nach Dillner[1]) beträgt die Globulinmenge im Eiereiweiss nur 6,6 % der gesammten Eiweissmasse. Die von uns erhaltenen Zahlen stehen denen von Hammarsten sehr nahe, differiren aber stark von der Analyse des Präparates aus Eiweisskrystallen von Hofmeister.

In der Hoffnung, dass die bestehende Verschiedenheit der Löslichkeit in sonstigen Eigenschaften ihren Ausdruck findet, haben wir die Bestimmung der Coagulationspunkte und die polarimetrische Untersuchung einzelner Präparate unternommen. Ausser den Grenzfractionen der Eiweissportion B haben wir noch zwei ihrer Löslichkeit nach dazwischen stehende, durch und durch krystallinische Fractionen in Untersuchung gezogen. Die Fraction Bm stellt die Ausscheidung aus der Mutterlauge von den Krystallen Ba_2 dar. Die Fraction Bb_2 wurde von der Lösung geliefert, welche durch Behandeln der Ausscheidung Ba_1 mit $^1/_2$ gesättigter Ammoniumsulfatlösung erhalten worden war.

Die Versuche haben wir mit der wässerigen Lösung der ammoniumsulfathaltigen Krystalle ausgeführt. Dieselben zeigten immer neutrale Reaction. Die Eiweissmenge wurde in den Lösungen durch Coagulation bestimmt, ausserdem aus einer

---

[1]) Jahresber. über die Fortschr. d. Thierch., Bd. 15.

Schwefelsäurebestimmung der Ammoniumsulfatgehalt berechnet. Die polarimetrische Untersuchung wurde mit einem Wild-schen Apparate ausgeführt und stellt Mittelzahlen dar aus je 20 von zwei Beobachtern gelieferten Ablesungen. Zur Bestimmung des Coagulationspunktes wurden 15 cbcm.-haltige Reagensgläser aus dünnem Glas angewandt; in dieselben wurden je 10 cbcm. der betreffenden Eiweisslösung gebracht und das Reagensglas in ein 1 Liter Wasser enthaltendes Becherglas eingetaucht, wobei für gute Vertheilung der Wärme im äusseren Gefäss, sowie für langsames Steigen der Temperatur gesorgt wurde. Als Coagulationspunkt wurde der Anfangspunkt der Fällung betrachtet.

In der nächstfolgenden Tabelle sind die Fractionen nach ihrer Löslichkeit in der Ammoniumsulfatlösung gereiht, mit Nr. 1 ist die schwerlösliche Fraction bezeichnet.

	Coagulationspunkt.	Eiweissgehalt pro 100 cbcm. der Lösung.	Ammonium-sulfat pro 100 cbcm.	Specif. Drehung.
Nr. 1: Ba_2 .	64,5° C.	6,48	1,57	25°8′
	64,5° C.	verdünnt	—	—
	64,5° C.	3,24	0,78	—
	—	9,44	2,26	26°2′
Nr. 2: Bm .	—	11,27	2,73	29°16′
Nr. 3: Bb_2 .	—	8,59	—	34°18′
Nr. 4: Bf_2 .	55,5°—56° C.	3,75	2,00	42°54′

Die Untersuchung ergab also ein allmäliges Steigen der Rotation von den schwerlöslichen zu den leichtlöslichen Fractionen und eine nicht unbedeutende Differenz der Coagulationstemperaturen der Eiweissfractionen. Es sind demnach zwischen den einzelnen krystallinischen Fractionen Unterschiede in physikalischen Eigenschaften vorhanden[1]).

[1]) Wenn es noch eines Beweises bedürfte, um die gegen die Hofmeister'schen Krystalle von Harnack erhobenen Vorwürfe zu widerlegen, so lässt sich derselbe dieser Tabelle entnehmen, wo aus dem Eiweiss- und Ammoniumsulfatgehalte sich das Mengenverhältniss derselben in den Krystallen leicht ergibt.

Aehnliches wurde früher von A. Gautier[1]), sowie Béchamp[2]) beobachtet. Die betreffenden Publikationen erschienen aber zu der Zeit, wo das Vorhandensein von Globulin im Eiereiweiss noch unbekannt war. Es lässt sich also nicht erkennen, inwiefern die beobachteten Differenzen auf Albumin zurückgeführt werden können. Die vor Kurzem aber erschienene Arbeit von Béchamp[3]) bringt vielleicht einen Beitrag zur Erklärung der Rotationsunterschiede, ohne dass man zu der Annahme tieferer Unterschiede zwischen den Fractionen genöthigt wäre.

In der Fraction Ba_2, welche uns in grosser Menge analysenrein zur Verfügung stand, wurde noch eine Kalk- und Phosphorsäurebestimmung vorgenommen, was umsomehr nothwendig war, als Hofmeister seine Krystalle als aschefrei bezeichnet.

Wir fanden:

0,285 % } P_2O_5
0,290 % }
und 0,261 % CaO.

Aus der Summe von Kalk und Phosphorsäure ergibt sich ein nicht unbedeutender Kalkphosphatgehalt von 0,55 %.

Das in Wasser lösliche unveränderte Eiweiss wurde ja auch von Niemandem aschefrei erhalten. Die früheren diesbezüglichen Angaben von Graham, A. Schmidt und Aronstein wurden später richtiggestellt; die neueren sind unzuverlässig, da eine zu geringe Menge Substanz zur Prüfung gebraucht wurde und der Aschengehalt sicher übersehen oder zu gering gefunden wurde. Anderseits aber ist uns klar, dass man durch solche Eingriffe wie das Auflösen in Kalilauge und Ausfällen mit Säure, wie es Harnack gethan, das Kalkphosphat abspalten kann, und ein in dieser Weise dargestelltes Präparat wird ebenso wie das nach Hammersten dargestellte Casein wohl aschefrei sein. Dieses sowie die Betheiligung

---

[1]) Gautier, Bulletin de la soc. t. XIV, p. 177.

[2]) Béchamp, Bull. d. la soc. ch. t. XXI.

[3]) Béchamp, Bull. de la soc. chim. (3) 9 p. 511, referirt in d. Ber. d. d. ch. Ges., Jahrg. 1893, S. 856.

des Kalkphosphates an den Gerinnungserscheinungen des Caseins mit Lab und der Fibringerinnung, sowie ferner eine Reihe aus der Litteratur über das Albumin bekannter Thatsachen, die wir hier nicht näher erörtern können, nöthigen zur Annahme, dass das Eieralbumin vielleicht aber überhaupt das thierische Eiweiss, wenn es Kalkphosphat enthält, an dasselbe chemisch gebunden ist[1]). Wie könnte auch anders das alkalische Blut das unlösliche Kalkphosphat den Geweben zuführen.

Versuche mit Eierglobulin.

Die Ammoniumsulfatmethode, welche bei Eieralbumin so gute Dienste leistet, gestattete uns nicht, das Eierglobulin krystallinisch darzustellen.

Die Versuche wurden mit dem durch gesättigte Ammoniumsulfatlösung (1:1) ausgefällten Globulin ausgeführt. Dasselbe wurde mit $^1/_2$ gesättigter Ammoniumsulfatlösung gelöst. Aus der Lösung wurden leicht Sphären, aber keine Krystalle, erhalten.

Versuche mit Blutserum.

Obgleich in Bezug auf Krystalle gleichfalls nicht von Glück begleitet, aber doch erwähnenswerth, sind unsere Versuche mit Blutserum.

Eine grössere Menge frischen Ochsenblutserums wurde in gleicher Weise wie das Eiereiweiss behandelt. Das gelblich gefärbte globulinfreie Filtrat gab schon nach wenigen Tagen, beim Stehen an der Sonne nach wenigen Stunden, eine Ausscheidung, welche Anfangs aus Körnchen oder kleinen Kugeln bestand und grau gefärbt war, aber nach mehrfachem

---

[1]) In König's Handbuch für Lebensmitteluntersuchung finden wir eine Aschenanalyse der rohen Eiereiweissflüssigkeit. Aus dem in dieser Tabelle gefundenen Kalkphosphatgehalt der Asche und der Trockensubstanzmenge wurde das Kalkphosphat auf trockenes Eiweiss berechnet, und die Berechnung ergab den Werth 0,34 %. Das Resultat ist bemerkenswerth, denn es folgt, dass wir den ganzen Kalkphosphatgehalt der rohen Eiweissflüssigkeit in unseren Krystallen wieder gefunden haben (mit einem Plus, welches auf die wenig genaue Ausführung der citirten Analyse zurückzuführen ist).

Auflösen in ½ gesättigter Ammoniumsulfatlösung (worin sie vollständig löslich war) eine vollkommen weisse Fällung gab. Dieselbe bestand nun aus Sphären, welche nach ihrer Gestalt und Grösse nicht von ähnlichen Gebilden aus Eiereiweiss zu unterscheiden waren. Aber selbst nach 4monatlichem Stehen unter Behinderung der Verdunstung wurden diese Kugeln nicht zu Krystallen umgewandelt.

Das ausgefällte Globulin wurde mit ½ gesättigter Ammoniumsulfatlösung ausgewaschen und in ⅓ gesättigter Ammoniumsulfatlösung gelöst. Das stark opalescente Filtrat wurde der Verdunstung ausgesetzt. Bereits nach 10 Tagen wurde ein reichlicher Niederschlag erhalten, welcher Anfangs aus feinen Körnchen bestand, leicht aber zu ähnlichen Sphären, wie die oft beobachteten, umgewandelt werden konnte. Wir haben auch versucht, das Globulin durch freie Verdunstung direct aus dem Blutserum, nachdem nur ein sehr geringer Niederschlag zur Entfernung der etwa suspendirten Stoffe (Fett etc.) mit Ammoniumsulfat erzeugt worden, ausfallen zu lassen. Es wurden hier aber ebenfalls nur die feinen Körner sowie Sphären erhalten. Es ist zu bemerken, dass die feinen Granulationen bei Globulin viel häufiger anzutreffen waren und viel schwieriger als beim Albumin zu grösseren Kugeln anwuchsen. Unser negatives Ergebniss schliesst aber nicht die Möglichkeit aus, nach dieser Methode, oder nach dem Princip derselben, Eiweisskrystalle aus Blutserum zu erhalten.

Das Blutserum ist ja eine Flüssigkeit von sehr complicirter Zusammensetzung und wir hatten Gelegenheit, uns zu überzeugen, wie schwer es ist, ein vollkommen reines Eiweisspräparat aus derselben zu isoliren. Zwei- bis dreimal ausgefällte Präparate zeigten noch einen unangenehmen specifischen Geruch und eine grauliche Farbe.

In der Form von Kugeln ausgefälltes Globulineiweiss hat vor mehreren Jahren Drechsel[1]) beobachtet, als er in eine Lösung von Serumglobulin in verdünnter Magnesiumsulfatlösung eine concentrirte Magnesiumsulfatlösung dialysirte,

[1]) Drechsel: «Eiweisskörper» in Ladenburg's Wörterbuch der Ch., Bd. 3, S. 555.

und die Vermuthung ausgesprochen, dass diese Globulinkugeln krystallinischer Natur seien.

Die Eiweisskugeln, welche am Eiereiweiss als Vorstufen der Krystalle sich erwiesen, stehen wie bekannt nicht als vereinzelte Beobachtung da. Im Pflanzenreiche ist man ihnen oft begegnet und die Darstellung der Eiweisskrystalle aus Pflanzensamen von Schmiedeberg, von Drechsel und seinen Schülern und von Ritthausen deutet darauf hin, dass die Krystalle auch hier im genetischen Zusammenhang mit den Kugeln stehen, umsomehr als diese Krystalle oder sogenannte Krystalloide in den Pflanzen neben den Eiweisskörnern und Eiweisskugeln beobachtet wurden.

Hierher gehören auch die im Eidotter beobachteten Gebilde, welche entweder als Dotterkugeln (in Vogeleiern) vorkommen oder mehr oder weniger gut (bei Fischen, Schildkröten, Batrachien) oft vollkommen (z. B. bei Salamandra atra) ausgebildete Krystalle darstellen[1]).

Die am Blutserum beobachteten Erscheinungen erinnern uns an die seiner Zeit lebhaft discutirte Beobachtung von Bizzozero und Hayem, an die Blutplättchen. Löwit[2]) hat diese Gebilde Globulinplättchen genannt und sie mit seinen künstlich, aus einer Globulin- sowie Fibrinogenlösung durch Einwirkung von Magnesiumsulfat erhaltenen Plättchen verglichen. Die letzten sind wohl unzweifelhaft mit unseren Globulinkugeln aus dem Blutserum identisch.

Albuminkugeln aus einem pathologischen Harne.

Einer von uns[3]) hatte nachträglich in der medicinischen Klinik in Parma Gelegenheit gehabt, einen eiweissreichen Harn eines Nephritiskranken auf das Verhalten gegen Ammoniumsulfat zu untersuchen und konnte das Albumin ebenfalls in Form der oft erwähnten Sphären erhalten.

---

[1]) «Die Gewebe des menschl. Körpers», von Behrens, Kossel und Schifferdecker, 1889, Bd. 1, S. 266—267.

[2]) Löwit: «Beiträge zur Lehre von der Blutgerinnung», Sitzungsber. der Wiener Acad. d. Wissensch., Bd. 89, Abth. III, S. 290 und Bd. 90, Abth. III, S. 80, Jahrg. 1884.

[3]) L. Zoja.

Analytische Methoden und Belege.

Die stark von einander abweichenden Resultate der Analysen von verschiedenen Forschern machen es uns zur Pflicht, das Beifolgende hinzuzufügen.

Zur Kohlenstoffbestimmung haben wir unsere Eiweisspräparate im offenen Rohr, im Platinschiffchen, bei fortwährendem Zufluss von Sauerstoff verbrannt. Der Schwefel wurde durch eine am anderen Ende der Röhre vorgelegte, 10 cm. lange Schicht von Bleichromat zurückgehalten. Die Substanz verbrannte leicht und vollständig unter Zurücklassung feiner Flöckchen schneeweisser Asche.

Die Stickstoffbestimmungen wurden nach der gasometrischen Methode gemacht. Die Substanz wurde fein gepulvert in einer 15 cm. langen Schicht von Kupferoxydpulver oder Bleichromat vertheilt. Die Rolle aus Kupferdrahtnetz war 20 cm. lang. Als Kohlensäureentwickler wurde ein Magnesitrohr benutzt. Der Stickstoff wurde im Zulkowski'schen Apparat aufgefangen. An dem abgelesenen Volum wurde eine dem geringen Luftgehalte entsprechende Correctur vorgenommen, welche sich aus der Verbrennung einer stickstofffreien Substanz (Zucker) ergab.

In den Fractionen Ba_2 und Bf_2 wurden auch Bestimmungen nach Kjeldahl ausgeführt. Die Zersetzung mit Schwefelsäure geschah unter Zusatz von Quecksilber. Die nachträgliche Oxydation mit Permanganat wurde vermieden. Die richtige Handhabung der Methode haben die mit Harnsäure und Hippursäure ausgeführten Controllbestimmungen bestätigt.

Zur Bestimmung des Schwefels wurde das Eiweiss vorher mit Salpetersäure oxydirt, wie im Laboratorium von Bunge seine Schüler Zinoffski und Jaquet bei der Schwefelbestimmung im Hämoglobin verfuhren, welches Verfahreu auch mit demjenigen von Hammarsten übereinstimmt.

Aus der rauchenden Salpetersäure wurden die Spuren vorhandener Schwefelsäure durch Destillation mit Bariumnitrat entfernt. Die Salzsäure wurde zu demselben Zwecke mit Bariumchlorid destillirt. Das zum Schmelzen angewandte Kalihydrat und der Kalisalpeter waren vollkommen schwefel-

frei. Das Verhältniss der Menge derselben zu der Substanzmenge wurde der Arbeit von Jaquet[1]) entnommen. Die Salpetersäure wurde aus der Schmelze durch wiederholtes Eindampfen mit Salzsäure vollkommen entfernt. Der gewogene Bariumsulfatniederschlag wurde immer auf lösliche Bariumverbindungen und zwar immer mit negativem Erfolge geprüft.

Von den zwei Phosphorsäurebestimmungen wurde eine im Filtrate vom Bariumsulfatniederschlag ausgeführt, indem derselbe mit Salpetersäure mehrmals eingedampft, die Salpetersäurelösung mit molybdänsaurem Ammonium gefällt und der Niederschlag wie üblich weiter behandelt wurde. Der dabei erhaltene Phosphorsäuregehalt wurde durch eine zweite Bestimmung controllirt, welche sammt der Kalkbestimmung in einer besonderen Eiweissprobe ausgeführt wurde. Das Eiweiss wurde zu dem Zwecke in Soda gelöst, die Lösung eingedampft und der Rückstand eingeäschert. Die mit Essigsäure angesäuerte Lösung der vollkommen kohlefreien Asche wurde mit Ammoniumoxalat gefällt. Die Phosphorsäure aus dem Filtrate durch directe Fällung mit Magnesiamischung erhalten.

Die Resultate der Analyse gibt die folgende Tabelle an:

Kohlenstoff- und Wasserstoffbestimmungen.

Präparat Aa_2.					Präparat Ab_2.				
Substanz gr.	CO_2 gr.	H_2O gr.	C %.	H %.	Substanz gr.	CO_2 gr.	H_2 gr.	C %.	H %.
0,3455	0,6617	0,2258	52,24	7,26	0,4084	0,7817	0,2700	52,20	7,34[2])
0,3233	0,6218	—	52,45	—	0,4370	0,8428	0,2745	52,59	6,95
0,3929	0,7583	—	52,63	—	—	—	—	—	—
Präparat Ba_2.					**Präparat Bf_2.**				
0,3745	0,7184	0,2376	52,31	7,05	0,5656	1,0791	0,3530	52,03	6,93
0,4521	0,8700	0,2892	52,48	7,10	0;4994	0,9537	0,3118	52,08	6,93
0,6256	1,2007	0,4104	52,35	7,28	0,3950	0,7549	0,2489	52,12	7,00
0,8020	1,5343	0,5150	52,19	7,13	—	—	—	—	—

[1]) Beiträge zur Kenntniss der Blutfarbstoffe von A. Jaquet, Inauguraldiss., Basel 1889.

[2]) Dieser durch einen analytischen Missgriff verschuldete zu hohe Wasserstoffgehalt wurde bei der Berechnung der Mittelzahl nicht berücksichtigt.

Stickstoffbestimmungen (gasometrisch).

Präparat Aa_2.					Präparat Ab_2.				
Substanz gr.	N-Volum cbcm.	Temperatur.	Barometerstand. mm.	N. %.	Substanz. gr.	N-Volum. cbcm.	Temperatur.	Barometerstand. mm.	N. %.
0,3647	50,7	17,8°C.	736	15,58	0,4013	54,8	21,1°C.	741	15,19
—	—	—	—	—	0,4180	55,6	17,8°C.	740	15,03
Präparat Ba_2.					Präparat Bf_2.				
0,4959	68,1	18,4°C.	738	15,40	0,3747	50,75	19,8°C.	744	15,23
0,3992	54,0	21,4°C.	742	15,52	0.4331	60,0	23,0°C.	744	15,32
0,4478	63,1	22,9°C.	739	15,49	0,4032	55,7	21,8°C.	741	15;30
0,4115	56,6	20° C.	744	15,45	—	—	—	—	—

Stickstoffbestimmungen nach Kjeldahl.

Substanz. gr.	1/2 N-Säure in der Vorlage.	Mit 1/10 N-Lauge zurücktitrirt.	N. %.
Präparat Ba_2.			
1,3922	33 cbcm.	10,3 cbcm.	15.55
1,5390	36 cbcm.	10,2 cbcm.	15,44
Präparat Bf_2.			
1,1290	29 cbcm.	21,3 cbcm.	15,33

Controlstickstoffbestimmungen nach Kjeldahl.

1,1215 gr. Harnsäure, 57 cbcm. 1/2 N-Säure in der Vorlage, 10,8 cbcm. 1/10 N-Lauge zurücktitrirt, 33,00 % N gef., 33,33 % N ber.

1,2258 gr. Hippursäure, 16 cbcm. 1/2 N.-Säure in der Vorlage, 12,1 cbcm. 1/10 N-Lauge zurücktitrirt, 7,75 % N gef., 7,82 % N ber.

Schwefelbestimmungen.

Präparat Ba_2.

3,0412 gr. Substanz.	0,3540 gr. $BaSO_4$.	1,600 % S.
6,6022 » »	0,7823 » »	1,629 » »

Präparat Ab_2.

1,1343 gr. Substanz.	0,1402 gr. $BaSO_4$.	1,700 % S.

Präparat Bf_2.

3,1075 gr. Substanz.	0,3801 gr. $BaSO_4$.	1,684 % S.
2,3726 » »	0,2944 » »	1,705 » »

Kalk- und Phosphorsäurebestimmung.

Präparat Ba_2.

6,6022 gr. Substanz, 0,0295 gr. $Mg_2P_2O_7$ oder 0,285 % P_2O_5.
6,4421 » » 0,0293 » » » 0,290 » » 0,0301 gr. $CaCO_3$ oder 0,261 % CaO.

Zur Kenntniss der Nucleoproteïde.

Von

Olof Hammarsten.

(Der Redaction zugegangen am 30. December 1893.)

In denjenigen Fällen von Glykosurie oder Diabetes, in welchen die Abstammung des Zuckers nicht von dem Glykogen oder anderen Kohlehydraten hergeleitet werden kann, hat man bekanntlich den Ursprung des Zuckers in dem Zerfalle von Eiweisskörpern gesucht. Man hat sogar versucht, die Menge Zucker zu berechnen, die im günstigsten Falle aus dem Eiweiss entstehen könnte, und daraus hat man dann weitere Schlüsse über die Art und Grösse des Stoffwechsels in den verschiedenen Formen von Diabetes gezogen. Man darf indessen hierbei nicht übersehen, dass es eine besondere Gruppe von Proteïden gibt, aus denen im Thierkörper wahrscheinlich Zucker abgespaltet werden könne, nämlich die Glykoproteïde; und es ist desshalb auch nicht unwichtig, das Vorkommen von solchen Proteïden in den Geweben und Organen genauer zu erforschen.

Von diesem Gedanken geleitet, machte ich mir schon vor mehreren Jahren zur Aufgabe, zu erforschen, in wie weit es ausser den echten Mucinen und den im Thierkörper weit verbreiteten Mucoïden auch andere Glykoproteïde in den Geweben gäbe. Dabei richtete ich besonders meine Aufmerksamkeit auf die Milchdrüse, das Pankreas und die Leber, und ich fand auch bald, dass besonders aus den zwei erstgenannten Organen

ohne Schwierigkeit ein Proteïd sich isoliren lässt, welches beim Sieden mit verdünnter Mineralsäure eine reducirende Substanz liefert. Die in gewissen Hinsichten unerwarteten Resultate, die ich im Laufe der Arbeit erhielt, und die vielen neuen Fragen, die in Folge davon sich aufdrängten, machten es indessen bald nothwendig, die Untersuchung auf nur ein bestimmtes Organ und ein bestimmtes Proteïd zu beschränken. Aus diesem Grunde liess ich auch bald die Untersuchungen über die Milchdrüse und die Leber bei Seite und wandte mich ausschliesslich zu der Untersuchung des Pankreasproteïdes.

Die Resultate dieser schon vor mehreren Jahren begonnenen Untersuchungen theilte ich im März 1892 der ärztlichen Gesellschaft in Upsala mit, und diese Untersuchungen sind schon vor bald einem Jahre in schwedischer Sprache veröffentlicht worden. Ich hatte gehofft, dieselben vor dieser Veröffentlichung in mehreren Hinsichten vervollständigen zu können; da mir aber die Zeit hierzu gefehlt hat und da ich auch in dem nächsten Jahre diese Arbeit wahrscheinlich ruhen lassen muss, wollte ich mit der Veröffentlichung der bisher gewonnenen Resultate in deutscher Sprache nicht länger zögern.

Wenn die fein zerschnittene oder zerhackte, vorher reinpräparirte, ganz frische Pankreasdrüse von Rindern in Wasser rasch gekocht wird, so erhält man leicht ein ganz klares, blassgelb gefärbtes Filtrat, in dem man nach dem Erkalten durch Zusatz von Salzsäure bis zu 1—2 p. m. oder von Essigsäure, 5—10 p. m., einen reichlichen, weissflockigen Niederschlag erhält. Durch wiederholtes Auflösen in Wasser mit Hülfe von möglichst wenig Alkali und Wiederausfällen mit einer Säure kann dieser Niederschlag, welcher aus dem Proteïde besteht, gereinigt werden. Eine durch Zusatz von sehr wenig Alkali bereitete, wässerige Lösung des so gewonnenen Proteïdes gibt bei Ausführung der Trommer'schen Probe keine Spur einer Reduction. Versetzt man sie dagegen mit einer verdünnten Mineralsäure, so dass sie etwa 1—2 % HCl oder 2 – 4 % H_2SO_4 enthält, und erhitzt im Wasserbade eine halbe oder ganze Stunde, so kann man nunmehr, wenn die Lösung mit einer passenden Kupfersulfat- und Alkalimenge

versetzt wird, eine schöne Reduction erhalten. Bei dem Erhitzen im Wasserbade spaltet sich aber auch eine reichliche Menge von Nucleïnbasen, besonders Guanin, ab und in Folge dessen erhält man leicht statt der typischen Trommer'schen Probe je nach der Menge des Kupfersulfates einen blassblauen, weisslich grünen oder missfarbigen Niederschlag[1]).

Wegen des Auftretens einer reducirenden Substanz nach dem Sieden mit einer Mineralsäure glaubte ich, besonders bevor ich die Abspaltung des Guanins kennen gelernt hatte, hier ein neues Glykoproteïd gefunden zu haben. Die weiteren Beobachtungen und in erster Linie die Stickstoffbestimmungen lehrten indessen bald, dass die Verhältnisse hier etwas complicirter waren.

Da die Glykoproteïde, wie die Mucine, die Mucoïde und das Helicoproteïd aus der Weinbergschnecke[2]) als Spaltungsproducte Eiweiss und Kohlehydrate oder Kohlehydratsäuren liefern, müssen sie selbstverständlich ärmer an Stickstoff als das Eiweiss sein. Dementsprechend schwankt auch der Gehalt der bisher untersuchten Glykoproteïde an Stickstoff zwischen 6 % und 13,7 %. Das aus dem Pankreas dargestellte Proteïd hatte dagegen den auffallend hohen Gehalt von 17,4 % Stickstoff und es war also sogar etwas reicher an Stickstoff als die meisten genuinen Eiweisskörper thierischen Ursprunges. Offenbar handelte es sich hier also entweder um ein von einer anderen stickstoffreichen Substanz verunreinigtes Glykoproteïd oder auch um ein Proteïd ganz anderer Art als die bisher bekannten Glykoproteïde.

Bei der Zersetzung des fraglichen Proteïdes mit Schwefelsäure von etwa 2 % im Wasserbade beobachtete ich einige Male, dass die saure Lösung, wenn sie etwas concentrirt wurde, nach dem Erkalten einen bräunlich gefärbten, krystallinischen Bodensatz absetzte. Aus einer grösseren Proteïd-

---

[1]) Man vergleiche die Beobachtungen von Drechsel und Balke in der Inauguraldissertation von Paul Balke «Zur Kenntniss der Xanthinkörper, Leipzig 1893.

[2]) Olof Hammarsten, Studien über Mucin etc., Pflüger's Archiv, Bd. 36, S. 428.

menge stellte ich eine grössere Portion der fraglichen Substanz dar und nachdem ich sie durch Entfärben mit Thierkohle und Umkrystallisiren gereinigt hatte, fand ich, dass sie aus Guaninsulfat bestand.

Der hohe Stickstoffgehalt des Pankreasproteïdes war also leicht erklärlich. Er rührte von einem Gehalte desselben an Nucleïnbasen her. Unter diesen Basen findet sich in unverhältnissmässig grösster Menge das Guanin vor, während ich von den anderen Basen so unbedeutende Mengen erhalten habe, dass ich sie nicht zum Gegenstand einer genaueren Untersuchung habe machen können. Aus diesem Grunde spreche ich auch oft in der Folge der Kürze halber statt von Nucleïnbasen einfach von dem Guanin.

Nachdem ich aus dem Proteïde Guanin erhalten hatte, war die nächste Frage also die, ob das Guanin nur als Verunreinigung dem Proteïde beigemengt oder als Spaltungsproduct aus dem Proteïdmolecüle hervorgegangen sei. Für die letztere Möglichkeit spricht schon die constante Zusammensetzung des Proteïdes. Hinsichtlich des Stickstoffgehaltes habe ich 8 verschiedene Präparate analysirt, die durch wiederholtes Auflösen in alkalihaltigem Wasser und Ausfällen theils mit Essigsäure und theils mit Chlorwasserstoffsäure dargestellt und gereinigt waren. In diesen 8 Präparaten schwankte der Stickstoffgehalt nur zwischen 17,3 und 17,45 %.

Um die elementäre Zusammensetzung des Pankreasproteïdes weiter zu beleuchten, theile ich hier diejenigen Zahlen mit, die ich bei der Elementaranalyse drei verschiedener Präparate erhalten habe. Die Zahlen beziehen sich auf die mit Alkohol und Aether erschöpfte, als aschefrei berechnete Substanz.

	C.	H.	N.	S.	P.
1.	43,56 %	5,46 %	17,45 %	0,724 %	4,45 %
2.	43,51 »	5,43 »	17,35 »	0,731 »	4,54 »
3.	43,78 »	5,47 »	17,37 »	0,730 »	4,44 »
Mittel	43,62 %	5,45 »	17,39 %	0,728 %	4,48 %

Die Substanz ist stark eisenhaltig. Quantitative Bestimmungen des Eisens habe ich indessen noch nicht ausgeführt.

Wenngleich die constante Zusammensetzung der verschiedenen Präparate entschieden gegen die Annahme spricht, dass das Guanin nur als Verunreinigung der Substanz beigemengt sei, so habe ich doch auch in anderer Weise die Berechtigung einer solchen Annahme zu prüfen mich bemüht. Um das von mir dabei befolgte Verfahren zu beleuchten, theile ich hier als Beispiel den folgenden Versuch mit.

Ich bereitete mir eine 1 procentige Lösung des Proteïdes in schwach ammoniakalischem Wasser und mass von derselben drei Portionen von je 20 cbcm. ab. Die erste Portion versetzte ich mit 10 cbcm. Schwefelsäure (von 10%) und übersättigte darauf mit silbernitrathaltigem Ammoniak (einem Gemenge von 30 cbcm. 10procentigem Ammoniak und 2 cbcm. einer 5procentigen Silbernitratlösung). Diese Portion blieb hierbei absolut klar, und im Laufe von 8 Tagen (länger setzte ich die Beobachtung nicht fort) trat keine Spur einer Trübung oder Fällung auf. Es konnte also in dieser Portion keine Spur von Nucleïnbasen direkt nachgewiesen werden. Die zweite Portion versetzte ich ebenfalls mit 10 cbcm. einer 10procentigen Schwefelsäure, erwärmte sie aber darauf während einer Stunde im Wasserbade. Nach dem Erkalten fügte ich dieselbe Menge ammoniakalischer Silberlösung wie in der ersten Portion hinzu, und es trat dabei sogleich eine starke Trübung auf, die bald in eine flockige Fällung von Guaninäther überging. In dieser Portion konnte also die Gegenwart von Nucleïnbasen nach dem Erwärmen mit verdünnter Schwefelsäure leicht nachgewiesen werden. Gegen die Beweiskraft dieser Versuche könnte man nun den Einwand machen, dass das mit verdünnter Säure in der Wärme nicht behandelte Proteïd vielleicht die Fähigkeit hat, die Ausfällung etwa gebildeten Guaninsilbers zu verhindern. Um die Berechtigung einer solchen Einwendung zu prüfen, verunreinigte ich absichtlich die dritte Portion mit einigen Milligrammen in sehr wenig verdünnter Natronlauge gelösten Guanins und setzte nun verdünnte Schwefelsäure und darauf ammoniakalische Silber-

lösung wie in der Portion 1 hinzu. In dieser Probe trat nun sogleich eine Trübung und bald darauf ein feinflockiger Niederschlag auf, und es konnte also in dieser mit Säure nicht erwärmten Probe das absichtlich zugesetzte Guanin nachgewiesen werden.

Versuche dieser Art und mit gebührend variirten quantitativen Verhältnissen habe ich mehrere Male ausgeführt und immer mit demselben Resultate. In der mit Säure nicht erwärmten Lösung des Proteïdes konnte nie die Spur einer Nucleïnbase nachgewiesen werden; in der mit Säure erwärmten Lösung gelang dieser Nachweis dagegen leicht und sicher.

Aus diesen Versuchen wie auch aus der constanten Zusammensetzung des Proteïdes habe ich mich berechtigt gesehen, den Schluss zu ziehen, dass das Guanin (bezw. die etwaigen anderen Nucleïnbasen) nicht dem Proteïde einfach beigemengt sind, sondern durch eine Spaltung aus demselben hervorgehen.

Es handelt sich hier also um ein Proteïd von sehr complicirter Zusammensetzung, und aus dem hohen Phosphorgehalte wie auch aus dem Auftreten von Nucleïnbasen (Guanin) bei der Zersetzung desselben folgt ohne weiteres, dass es den Nucleïnsubstanzen nahe steht. Als ein echtes Nucleïn konnte ich es indessen nicht auffassen, denn einerseits spaltet sich aus ihm bei der Pepsinverdauung eine nucleïnähnliche Substanz ab und andererseits liefert es beim Sieden mit verdünnter Mineralsäure eine reducirende Substanz.

Löst man das Pankreasproteïd in Chlorwasserstoffsäure von 0,2 – 0,5 % HCl, setzt Pepsinlösung hinzu und lässt bei Körpertemperatur stehen, so scheidet sich nach einiger Zeit eine Substanz von den Eigenschaften des Nucleïns ab. Dieses Nucleïn, welches dieselben Spaltungsproducte wie das ursprüngliche Pankreasproteïd liefert, ist etwas, aber nur wenig, reicher an Phosphor als dieses. Der Gehalt an Phosphor war nämlich 5,21 %

Hinsichtlich der Löslichkeitsverhältnisse steht das Pankreasproteïd indessen den echten Nucleïnen nahe, indem es nämlich in sehr verdünnter Salzsäure schwer löslich ist. Dies folgt schon aus der Darstellungsmethode, bei deren Be-

sprechung ich schon angab, dass man die Substanz durch Zusatz von verdünnter Salzsäure bis zu 0,1—0,2% HCl ausfällen kann. Um hierbei grössere Verluste an Substanz zu vermeiden, ist es indessen nothwendig, die Ausfällung in einer kalten, nicht zu stark verdünnten Flüssigkeit vorzunehmen. Bei den Verdauungsversuchen arbeitet man dagegen am besten mit stark verdünnten Lösungen; und bei der Verdauung mit Pepsinchlorwasserstoffsäure verfuhr ich in folgender Weise. Ich löste die Substanz in Wasser mit Hülfe von ein wenig Alkali und verdünnte die so gewonnene, neutrale Lösung mit Wasser, bis der Gehalt an Substanz 0,5% betrug Diese Lösung wurde dann auf etwa 37—40° C. erwärmt und mit dem gleichen Volumen einer ebenfalls auf gegen 40° C. erwärmten Salzsäure von 0,5% HCl gemischt. Von diesem Gemenge wurde eine kleine Portion der Controlle halber abgemessen und in einer Flasche im Verdauungsofen aufbewahrt. Die Hauptmenge der sauren Proteïdlösung wurde mit einer kleinen Menge einer sehr kräftigen sauren Pepsinlösung versetzt und bei 40° C. der Verdauung überlassen. Schon nach wenigen Stunden fing diese Probe an sich zu trüben und es trat bald darauf ein flockiger Niederschlag auf, während die Controllprobe tagelang erwärmt werden konnte, ohne sich zu trüben. Im Gegentheil wurde die ursprünglich recht starke Opalescenz etwas schwächer.

Da also das Pankreasproteïd bei der Pepsinverdauung unter Abscheidung von einer nucleïnähnlichen Substanz sich spaltet, sah ich mich nicht berechtigt, das Proteïd selbst als ein Nucleïn zu betrachten. Ich bezeichnete es desshalb einfach als ein Nucleoproteïd, wenn ich auch gern zugebe, dass es durch seine Schwerlöslichkeit in verdünnter Salzsäure den Nucleïnen sehr nahe steht.

Ein weit wichtigerer Grund, die Substanz nicht als ein Nucleïn aufzufassen, war für mich der Umstand, dass sie beim Sieden mit einer verdünnten Mineralsäure eine reducirende Substanz gab. Zu jener Zeit, wo ich in meinen Untersuchungen zu diesem Punkte gekommen war, fanden sich nämlich meines Wissens noch keine Beobachtungen über

das Vorkommen von Kohlehydratgruppen in Nucleïnsubstanzen vor. Nunmehr sind durch die bahnbrechenden Untersuchungen von Kossel und seinen Schülern derartige Beobachtungen bekannt geworden, und wenn ich auch fortwährend die Substanz nicht als ein typisches Nucleïn betrachten kann, so trage ich selbstversändlich nunmehr nicht das geringste Bedenken, sie als eine Nucleïnsubstanz, und zwar als ein Nucleoproteïd, zu bezeichnen.

Ich gehe nun zu dem zweiten wichtigen Spaltungsproducte des Pankreasproteïdes, nämlich der reducirenden Substanz über. Ich muss dabei sogleich bemerken, dass meine Bemühungen, diese Substanz in reinem Zustande zu gewinnen, bisher ohne Erfolg geblieben sind. Aus diesem Grunde stand ich auch nach einiger Zeit von diesen Bemühungen ab und versuchte statt dessen ein Osazon derselben darzustellen. Dies ist mir auch gelungen. Bevor ich aber zu der Besprechung dieses Osazons[1]) übergehe, will ich erst über die von mir zur Reingewinnung der Substanz am öftersten verwendete Methode berichten, weil diese Methode auch bei der Darstellung des Osazons in der Hauptsache befolgt wurde.

Das Proteïd wird mit Schwefelsäure von etwa 3% H_2SO_4 (etwa 30 gr. Proteïd auf je 1 Liter Säure) einige Stunden im siedenden Wasserbade erwärmt. Darauf wird mit Barythydrat fast vollständig neutralisirt und warm filtrirt. Aus dem Filtrate scheidet sich beim Erkalten etwas Guaninsulfat aus, welches abfiltrirt wird (durch Auskochen der Barytfällung mit verdünnter Schwefelsäure kann noch eine Portion Guanin gewonnen werden). Das von dem Baryumniederschlage getrennte gelbbraune Filtrat wird mit Baryumcarbonat vollständig neutralisirt, auf dem Wasserbade verdunstet, von ausgeschiedenen Nucleïnbasen (Guanin) durch Filtration getrennt, zum dünnen Syrup concentrirt und mit überschüssigem Alkohol gefällt. Die blassgelbe, alkoholische Flüssigkeit wird von dem braungefärbten Niederschlage getrennt. Der letztere wird in wenig Wasser gelöst und zum zweiten Male mit Alkohol

[1]) Obzwar die Natur dieser Verbindung noch nicht durch Analysen ermittelt ist, nenne ich sie doch in dem Folgenden der Kürze halber Osazon.

gefällt. Dieses zweite alkoholische Filtrat wird mit dem ersten vereinigt und beide dann bei gelinder Temperatur, 50—60° C., zusammen verdunstet. Die nach dem Verdunsten des Alkohols zurückbleibende Flüssigkeit wird mit etwas Wasser verdünnt und darauf mit Kupfersulfatlösung versetzt, bis kein Niederschlag weiter entsteht. Das neue Filtrat wird mit Barytlösung versetzt, der neue Niederschlag abfiltrirt, das Filtrat mit Kohlensäure von überschüssigem Baryt befreit und wiederum filtrirt. Das zuletzt erhaltene Filtrat wird nun mit einer ziemlich concentrirten Lösung von Gerbsäure in Wasser so lange gefällt, bis keine Trübung mehr entsteht. Die überschüssige Gerbsäure entfernt man darauf aus dem Filtrate zuerst zum grössten Theile mit Bleizuckerlösung und zuletzt mit Bleiessig, wobei indessen ein theilweiser Verlust an reducirender Substanz nicht ganz zu vermeiden ist. Aus dem gerbsäurefreien Filtrate entfernt man das Blei mit Schwefelwasserstoff, welch' letzterer durch einen Luftstrom verjagt wird. Man erhält in dieser Weise zuletzt ein ganz farbloses Filtrat, welches stark reducirend wirkt. Dieses Filtrat bräunt sich indessen bei dem Abdampfen und es liefert sogar bei dem Verdunsten über Schwefelsäure bei Zimmertemperatur einen gelbbraunen, amorphen Rückstand. Behandelt man den letzteren mit Alkohol, so löst sich die Hauptmasse, während ein flockiger, ungelöster Rest zurückbleibt. Lässt man das alkoholische Filtrat über Schwefelsäure verdunsten, so erhält man wiederum einen syrupösen Rückstand, der zum Theil in Alkohol löslich, zum Theil darin unlöslich ist. Die Substanz scheint sich also bei dem Verdunsten zu zersetzen und noch habe ich, wie gesagt, keine Methode zur Reingewinnung der reducirenden Substanz finden können.

Ueber die Eigenschaften derselben habe ich desshalb auch nicht viel zu sagen. Die Substanz ist leicht löslich in Alkohol. Aus dieser Lösung wird sie durch Zusatz von Aether als eine amorphe, weisslich gelbe Masse gefällt, die in Wasser äusserst leicht löslich ist. Diese Lösung hat einen schwach süsslichen und etwas bitteren Geschmack.. Ob die Lösung optisch activ ist, habe ich nicht entscheiden können,

weil ich entweder mit zu verdünnten oder, bei stärkerer Concentration mit zu stark gefärbten Lösungen gearbeitet habe. Die Lösung vergährt mit Hefe nicht. Auffallend ist es, dass die Lösung eine starke Reaction auf Pentosen mit Phloroglucinsalzsäure gibt. Ebenso gab die etwas concentrirtere Lösung bei der Destillation mit Salzsäure Furfurol im Destillate.

Zur Darstellung des Osazons verwendete ich am öftersten das, wie oben angegeben, erhaltene, mit Schwefelwasserstoff entbleite Filtrat. Nach dem vollständigen Verjagen des Schwefelwasserstoffs wurde neutralisirt, mit salzsaurem Phenylhydrazin und Natriumacetat versetzt und im Warmbade etwa eine halbe Stunde erwärmt. Nach dem Erkalten scheidet sich dann in reichlicher Menge das Osazon als eine blassgelbe Masse aus, die abfiltrirt wird. Aus dem Filtrate scheidet sich nach fortgesetztem Erwärmen beim Abkühlen noch eine Quantität Osazon aus. Die gelbe Masse, welche an der Luft nach einiger Zeit mit einer braunen, dünnen Haut sich überzieht, zeigt bei mikroskopischer Untersuchung hauptsächlich lange, durcheinander geflochtene Fäden oder zu Rosetten vereinigte feine Nadeln nebst amorphen Massen. Zur Darstellung des Rohproductes ist es übrigens nicht nothwendig, das obige entbleite Filtrat zu verwenden. Ich habe nämlich auch das Osazon aus dem Filtrate vor der Gerbsäurebehandlung darstellen können; doch erhält man leichter ein weniger unreines Product aus dem erstgenannten, entbleiten Filtrate.

Behufs der weiteren Reinigung wird das Osazon wiederholt aus siedendem Wasser oder aus Alkohol durch Verdünnung mit warmem Wasser und Erkaltenlassen umkrystallisirt. Erst nach mehrmaligem Umkrystallisiren kommt man hierbei soweit, dass keine harzigen, amorphen Massen neugebildet werden, und die Reinigung ist desshalb auch leider mit grossen Verlusten verbunden.

Das Osazon ist äusserst schwerlöslich in kaltem Wasser, löst sich aber verhältnissmässig leicht in siedendem. Wenn die Lösung nicht sehr verdünnt ist, so erstarrt sie beim Erkalten zu einer gelben Masse, die aus Häuten und zusammengefilzten Nadeln besteht. Löst man dagegen das Osazon in

viel warmem Wasser, so dass die Ausscheidung langsam aus einer sehr verdünnten Lösung erfolgt, so erhält man, wenn das Osazon im übrigen rein ist, lauter feine Krystallnädelchen, die zu Ballen oder Rosetten gruppirt sind. Das Osazon ist ungemein leicht löslich in Alkohol, Aether und Chloroform. Aus der verdünnten alkoholischen Lösung kann man, wie oben bemerkt, durch Verdünnuug mit warmem Wasser bis zur bleibenden Trübung und Erkaltenlassen das Osazon umkrystallisiren.

Nachdem ich bei der Reinigung des Osazons so weit gekommen war, dass es bei mikroskopischer Untersuchung nur rosettenartig gruppirte feine Krystallnadeln ohne Beimengung von amorpher Substanz zeigte, bestimmte ich den Schmelzpunkt desselben. Das Osazon schmolz bei 159° C. oder genauer zwischen 158—160° C. Selbst nach neuem 4—5maligem Umkrystallisiren blieb der Schmelzpunkt constant.

Trotzdem ich dieses Osazon mehrere Male dargestellt habe, kann ich doch über die elementäre Zusammensetzung desselben keine Angaben machen. Wegen der bei der Reindarstellung unvermeidlichen grossen Verluste habe ich nämlich im Ganzen nur wenig Substanz erhalten und die einzige Elementaranalyse, die ich unternommen habe, ging leider durch einen Unfall verloren.

Aus dem Schmelzpunkte und den Löslichkeitsverhältnissen des in Rede stehenden Osazons folgt indessen, dass es mit keinem der gewöhnlichen Osazone identisch sein kann. Dagegen hat es denselben Schmelzpunkt wie die Osazone der Pentaglykosen, und dieses Verhalten wird von einem besonderen Interesse, wenn man der Beobachtungen von E. Salkowski und M. Jastrowitz[1]) sich erinnert. Diese Forscher konnten nämlich aus dem Harne eines Morphinisten ein Pentaglykosazon darstellen, dessen Schmelzpunkt 159° C. war, und welcher mit dem aus dem Pankreasproteïde dargestellten auch darin übereinstimmte, dass es in kaltem Wasser schwer, in warmem dagegen verhältnissmässig leicht löslich war. Wenn man sich nun weiter vergegenwärtigt, dass die von mir erhaltenen Lösungen der reducirenden Substanz, aus welchen das

[1]) Centralbl. f. die med. Wiss., Jahrg. 30, 1892, Nr. 19 und 32.

Osazon dargestellt wurde, mit dem Tollens'schen Reagense starke Pentaglykosereaction gaben und dass sie ferner bei der Destillation mit Salzsäure reichlich Furfurol lieferten, so dürfte gewiss die Annahme nahe liegen, dass bei der Spaltung des Pankreasproteïdes mit verdünnter Schwefelsäure Pentaglykose entsteht.

Trotz dieser naheliegenden Annahme dürfte es doch vielleicht am richtigsten und vorsichtigsten sein, noch keine ganz bestimmten Schlüsse zu ziehen, denn es gibt ja ausser den Pentaglykosen noch eine andere Substanz, welche ebenfalls die Pentaglykosereactionen gibt, nämlich die Glykuronsäure[1]). Bezüglich des Verhaltens dieser Säure zu der Phenylhydrazinprobe gehen indessen leider die Angaben etwas auseinander. E. Fischer[2]) erhielt aus Glykuronsäureanhydrid mit salzsaurem Phenylhydrazin und Natriumacetat im Wasserbade nach einiger Zeit braune Tropfen und eine zähe schwarze Masse. Thierfelder[3]) dagegen erhielt aus glykuronsaurem Kali mit derselben Reaction eine flockige gelbe, aus microscopischen Nadeln bestehende Fällung. Die gereinigte Fällung hatte einen Schmelzpunkt von 114—115° C. und einen Gehalt von 16,58 % Stickstoff. Geyer[4]) erhielt dagegen sowohl mit Glykuronsäure wie mit glykuronsaurem Natron einen aus gelben, mikroskopischen Nadeln bestehenden Niederschlag, welcher weder hinsichtlich der Krystallform noch bezüglich der Löslichkeit irgend welchen Unterschied von dem gewöhnlichen Glykosazon zeigte. Endlich gibt Hirschler[5]) an, dass er bei Versuchen mit glykuronsaurem Natron bei kurzdauernder Erwärmung zwar Krystalle erhalten hat, dass diese aber nicht ganz wie die gewöhnlichen Phenylglykosazonkrystalle sich verhielten. Beim Erwärmen während einer Stunde oder mehr erhielt er nur einen amorphen braungelben Niederschlag.

---

[1]) Wheeler und Tollens, Ann. d. Chem. u. Pharm., 254; Tollens, Günther und de Chalmot, Berliner Berichte, Bd. 23, S. 1752, und Bd. 25, S. 2569.

[2]) Berliner Berichte, Bd. 17.

[3]) Zeitschrift für physiol. Chemie, Bd. 11.

[4]) Wiener Med. Presse, Bd. 30.

[5]) Zeitschrift für physiol. Chemie. Bd. 14.

Eigene Erfahrungen über das Verhalten der Glykuronsäure bei der Phenylhydrazinprobe habe ich nicht mitzutheilen. Wenn ich aber das Verhalten des von mir dargestellten Osazons, sei es mit der einen oder der anderen der obigen, unter einander widersprechenden Angaben vergleiche, so finde ich nur Verhältnisse, welche der Glykuronsäurenatur derselben widersprechen. Ich habe also keinen Grund zu der Annahme, dass die von mir bei der Phenylhydrazinprobe erhaltene krystallisirende Substanz eine Glykuronsäureverbindung sei. Hiermit soll natürlich nicht ausgesagt sein, dass bei der Zersetzung des Proteïdes nicht auch Glykuronsäure vielleicht entsteht. Im Gegentheil macht das Verhalten der Lösung bei der Verdunstung, die ausserordentlich leichte Zersetzung der reducirenden Substanz unter Braunfärbung die Gegenwart von Glykuronsäure unter den Zersetzungsproducten des Proteïdes nicht unwahrscheinlich. Uebrigens muss ich bemerken, dass die obigen Angaben über Pentosereactionen nicht auf das Osazon selbst, sondern auf diejenige Lösung sich beziehen, aus welcher das Osazon dargestellt wurde. Es ist also wohl möglich, dass die fragliche Lösung zwei reducirende Substanzen enthält, von denen die eine die Osazonkrystalle liefert, die andere dagegen die obigen Pentose- oder Glykuronsäurereactionen gibt. Wie es sich hiermit verhält, muss ich diesmal dahingestellt sein lassen.

Die Thatsache, dass unter den Spaltungsproducten des Pankreasproteïdes auch reducirende Kohlehydrate sich vorfinden, die einerseits ein krystallisirendes Osazon liefern können und andererseits Pentosenreactionen geben, gewinnt an Interesse, wenn man die Untersuchungen von Kossel[1]) über die Hefenucleïnsäure sich vergegenwärtigt. Unter den Zersetzungsproducten der aus Hefe dargestellten Nucleïnsäure mit verdünnter Säure konnte er nämlich sowohl Pentaglykose wie eine Hexose nachweisen. Meine Untersuchungen zeigen nun, dass auch die Nucleïnsubstanzen thierischen Ursprunges reducirende Kohlehydrate liefern können. Dass ein solches Ver-

---

[1]) Ueber die Nucleinsäure. Verhandlungen der physiol. Gesellschaft zu Berlin, Sitzung am 14. October 1892 (Separatabzug).

halten nicht dem Pankreasproteïde allein, sondern auch anderen Nucleïnsubstanzen zukommt, ist schon an und für sich wahrscheinlich und es lässt sich direct beweisen. Ich habe nämlich, wie Eingangs erwähnt wurde, auch aus der Milchdrüse ein Nucleoproteïd isoliren können, welches beim Sieden mit verdünnter Mineralsäure eine reducirende Substanz liefert. Auch in diesem Falle ist es mir gelungen, ein krystallisirendes Osazon darzustellen.

Das nun hinsichtlich seiner Zersetzungsproducte von mir besprochene Nucleoproteïd kommt übrigens nicht in der Drüse vorgebildet vor. Es entsteht vielmehr beim Sieden der Drüse mit Wasser durch Zersetzung einer anderen weit mehr komplicirten Nucleïnsubstanz, die in der Drüse vorkommt. Dieses letztere Proteïd, welches ich der Kürze halber einfach als Proteïd α bezeichne, spaltet sich nämlich, wenn seine Lösung in Wasser gekocht wird, in coagulirtes Eiweiss und das oben besprochene Proteïd, welches ich Proteïd β nenne. Dies ist der Grund, warum das Proteïd β nach dem obigen Verfahren durch Sieden der Drüse mit Wasser gewonnen werden kann. Hierbei spaltet sich nämlich das Proteïd α in geronnenes Eiweiss und das Proteïd β, welches als Alkaliverbindung in dem Filtrate gelöst bleibt und daraus durch Säurezusatz gefällt werden kann. Das α-Proteïd gehört also zu den hochcomplicirten Nucleoproteïden, welche von verschiedenen Forschern als Gewebefibrinogen (Wooldridge), Cellfibrinogen (Wright), Cytoglobin und Präglobulin (Alex. Schmidt), Nucleohiston (Kossel und Lilienfeld), Cellglobulin (Halliburton) und Nucleoalbumin (Pekelharing) beschrieben worden sind. Das β-Proteïd steht dagegen dem echten Nucleïn sehr nahe.

Man kann nun fragen, warum ich das Proteïd β, welches ja nur ein Spaltungsproduct ist, und nicht die Muttersubstanz desselben, das Proteïd α, studirt habe. Hierzu kann ich Folgendes antworten. Da es vor Allem daran lag, die nicht eiweissartigen Spaltungsproducte des Proteïdes zu studiren, war es selbstverständlich einfacher und besser, ein eiweissärmeres Material als Ausgangspunkt für die Untersuchung zu

nehmen. Der wichtigste Grund war aber der, dass die Reindarstellung des Proteïdes α mit so grossen Schwierigkeiten verbunden ist, dass — wenn man es einigermassen rein erhalten will — die Ausbeute daran gar zu gering wird. Eine äusserst schwer zu entfernende Verunreinigung ist der Blutfarbstoff und ebenso ein anderer Farbstoff, der, wie es scheint, aus dem Proteïde selbst durch Zersetzung an der Luft entsteht. Eine andere Verunreinigung ist das Trypsin. Das Proteïd α wirkt nämlich so ungemein kräftig verdauend, dass ich nach keiner Methode ein kräftiger wirkendes Trypsin habe herstellen können und es war deshalb auch sogar fraglich, ob nicht das Proteid α als Trypsin zu betrachten wäre. Auf Grund mehrerer älteren Beobachtungen, namentlich der Untersuchungen von Kühne über das Trypsin, glaube ich indessen eine solche Annahme zurückweisen zu müssen, obwohl ich durch eigene Versuche noch keine Klarheit in dieser Frage gewonnen habe. Da die Reindarstellung des Proteïdes α mir noch nicht gelungen ist, und da ich namentlich die Annahme, dass das Trypsin eine Verunreinigung desselben sei, noch nicht sicher zurückweisen kann, so will ich diesmal keine weiteren Mittheilungen über dieses Proteïd machen.

Auf dem Gebiete der Nucleïnsubstanzen besteht hinsichtlich der Nomenclatur gegenwärtig eine gewisse Unklarheit, insofern als einige Forscher alle diejenigen Stoffe, welche bei der Pepsinverdauung ein unlösliches, phosphorhaltiges Spaltungsproduct liefern, als Nucleoalbumine bezeichnen, während andere dagegen theils von Nucleoalbuminen und theils von Nucleoproteïden sprechen. Aus dieser Unklarheit kann leicht eine wirkliche Verwirrung hervorgehen und dies veranlasst mich, meine Stellung zu dieser Namenfrage hier anzugeben.

Kossel[1]) hat bekanntlich den Vorschlag gemacht, dass man als echte Nucleïne oder schlechthin als Nucleïne nur diejenigen Nucleïnsubstanzen, welche als Spaltungsproducte Nucleïnbasen liefern, und als Paranucleïne dagegen die übrigen nucleïnartigen Substanzen bezeichnen würde. Diesem Vorschlage stimme

[1]) Ueber die chem. Zusammensetzung der Zelle. Verhandl. der physiol. Ges. zu Berlin 1891.

ich nun insoferne bei, als ich ebenfalls es nützlich finde, dass die erstgenannten Nucleïne als eine besondere Gruppe von den übrigen getrennt werden. Dagegen trage ich einige Bedenken, alle anderen sog. Nucleïnsubstanzen als eine besondere Gruppe zu betrachten und mit dem Namen Paranucleïn zu bezeichnen. Es ist nämlich offenbar, dass in diesem Falle die Paranucleïngruppe Stoffe, die unter einander sehr verschiedenartig sind, einzuschliessen kommt.

Als Paranucleïne müsste man also die bei der Pepsinverdauung ungelöst zurückbleibenden Liebermann'schen Lecithalbumine bezeichnen, die nach ihm wahrscheinlich Verbindungen von Eiweiss mit Lecithin sind oder jedenfalls lecithinhaltiges Eiweiss darstellen. Und selbst, wenn man sich nicht genöthigt ansehen will, diese Stoffe als Paranucleïne zu bezeichnen, so bleiben doch noch zwei andere Gruppen von Paranucleïnen übrig, die unter einander sehr verschiedenartig sind.

Aus dem Ichthulin haben Kossel und Walter[1]) ein Paranucleïn isolirt, welches bei der Spaltung mit Schwefelsäure ein energisch reducirendes Kohlehydrat gibt, aus dem mit der Phenylhydrazinprobe sogar eine krystallisirende Verbindung erhalten wurde. In ganz anderer Weise verhält sich dagegen dasjenige Paranuclein, welches aus dem Caseïn bei der Pepsinverdauung entsteht. Aus diesem Paranucleïn hat nämlich meines Wissens bisher Niemand ein reducirendes Kohlehydrat darstellen können, und diese zwei Paranucleïne sind also grundverschiedener Art.

Da man in der Chemie den Begriffen Para, Meta und Ortho eine besondere Bedeutung beilegt, finde ich es kaum angemessen, alle nucleïnähnliche Substanzen, welche keine Nucleïnbasen liefern, als Paranucleïne zu bezeichnen und als eine besondere Gruppe den echten Nucleïnen gegenüberzustellen. Wenn man diejenigen sog. Nucleïne, welche Nucleïnbasen liefern, mit Kossel als echte Nucleïne oder schlechthin als Nucleïne bezeichnet, so würde es nach meiner Ansicht besser sein, wenn man alle anderen nucleïnähnliche Stoffe

---

[1]) Zeitschrift f. physiol. Chemie, Bd. 15.

als Pseudonucleïne bezeichnete. Hiermit ist nämlich nichts Anderes ausgesagt, als dass diese Stoffe keine echten Nucleïne sind, dass sie vielmehr nur in gewissen Hinsichten den Nucleïnen ähneln und also nur scheinbare Nucleïne sind, die übrigens unter einander sehr verschiedenartig sein können.

Nachdem ich nun von den Nucleïnen gesprochen habe, gehe ich zu den Nucleoalbuminen und Nucleoproteïden über.

Als Proteïde bezeichnet man bekanntlich Proteïnsubstanzen, die mehr zusammengesetzt als die Eiweissstoffe im eigentlichen Sinne sind und welche dementsprechend als Spaltungsproducte einerseits Eiweissstoffe — bezw. die aus allem Eiweiss hervorgehenden Zersetzungsproducte — und andererseits irgend welche anderen nicht eiweissartigen Stoffe, wie Farbstoffe, Kohlehydrate, Nucleïnbasen u. A. liefern.

Zu dieser Gruppe gehört das Caseïn offenbar nicht. Aus diesem Stoffe hat man nämlich als nächste Spaltungsproducte nur Eiweiss erhalten, nämlich theils phosphorfreies und theils phosphorhaltiges, welch letzteres nach Liebermann eine Verbindung von Metaphosphorsäure mit Eiweiss ist. Bei mehr tiefgreifender Zersetzung hat man nur die Spaltungsproducte des Eiweisses im Allgemeinen erhalten. Das Caseïn ist also kein Proteïd, sondern nur eine phosphorhaltige Albuminsubstanz, und da man schon seit vielen Jahren das Caseïn als den wichtigsten Repräsentanten der Nucleoalbumingruppe betrachtet hat, so dürfte es wohl am besten und richtigsten sein, den Namen Nucleoalbumine fortwährend nur für solche phosphorhaltige Eiweissstoffe zu gebrauchen, die bei der Pepsinverdauung ein Pseudonucleïn von derselben Art wie das aus Caseïn liefern.

Es ist einleuchtend, dass ich einen solchen Stoff wie das Ichthulin, welches bei seiner Spaltung ein reducirendes Kohlehydrat gibt, nicht als Eiweiss im eigentlichen Sinne betrachten kann. Das Ichthulin muss nach den Untersuchungen von Walter als ein Glykoproteïd bezeichnet werden, und es gehört allem Anscheine nach zu derselben Gruppe wie das von mir aus der Eiweissdrüse der Weinbergschnecke dargestellte, nunmehr von mir Helicoproteïd genannte phos-

phorhaltige Glykoproteïd. Derartige phosphorhaltige Glykoproteïde nenne ich zum Unterschied von den phosphorfreien Glykoproteïden (den Mucinsubstanzen und Hyalogenen) einfach Phosphoglykoproteïde; und wenn es nun auch wahr ist, dass diese Glykoproteïde bei der Pepsinverdauung ein Pseudonucleïn liefern, so kann ich doch hierin keinen dringenden Grund dafür sehen, diese Proteïde als Nucleoproteïde zu bezeichnen. Ein solcher Name passt nämlich viel besser nur für solche Proteïde, welche als Spaltungsproducte Xanthinkörper oder sog. Nucleïnbasen liefern.

Die echten Nucleïne im gewöhnlichen Sinne sind bekanntlich nach Altmann und Kossel Verbindungen zwischen Eiweiss und und einer phosphorhaltigen Säure, der sog. Nucleïnsäure. Dasselbe gilt ebenfalls von den mehr zusammengesetzten Nucleïnsubstanzen, wie dem sog. Nucleohiston, dem Pankreasproteïde u. a.; auch diese Stoffe sind Verbindungen von Nucleïnsäure mit Eiweiss, und der Unterschied ist wesentlich der, dass sie viel mehr Eiweiss enthalten und dass ein Theil des Eiweisses viel leichter abspaltbar ist. Hieraus folgt also, dass alle sog. echten Nucleïne, mit Ausnahme der Nucleïnsäure selbst, Proteïde — und zwar Nucleoproteïde — sind.

Das Consequenteste würde also gewiss sein, entweder alle Nucleïnsubstanzen als Nucleoproteïde oder alle Nucleoproteïde als Nucleïne zu bezeichnen; aber dies würde gewiss nicht die Sache klären, sondern umgekehrt mehr verwickeln. Seit vielen Jahren ist man nämlich daran gewöhnt, als wahres Nucleïn nur das bei der Verdauung der echten Nucleïnsubstanzen mit Pepsinchlorwasserstoffsäure entstehende phosphorhaltige Spaltungsproduct zu bezeichnen. Diesem Sprachgebrauche gemäss bezeichne auch ich fortwährend als echtes Nucleïn, oder schlechthin als Nucleïn, nur diejenigen in verdünnter Säure unlöslichen Verbindungen zwischen Nucleïnsäure und Eiweiss, welche als unlösliche Spaltungsproducte bei der Pepsinverdauung anderer, mehr complicirten Nucleïnsubstanzen entstehen. Alle übrigen mehr complicirten Nucleïnsubstanzen, die bei der Pepsinverdauung in Eiweiss und echtes Nucleïn sich spalten, nenne ich Nucleoproteïde.

Dass diese Nucleoproteïde untereinander wiederum verschiedenartig sind, unterliegt wohl keinem Zweifel, und es dürfte vielleicht binnen Kurzem nöthig werden, eine weitere Classificirung derselben zu machen. Für jetzt liegt indessen keine derartige Nothwendigkeit vor, und es dürfte gut sein, mit einer weiteren Classificirung zu warten, bis man in die chemische Natur dieser Substanzen tiefer eingedrungen ist.

Als *Nucleïne* bezeichnet man also noch Kossel's Vorschlag am besten nur solche bei der Pepsinverdauung mehr complicirter Proteïnsubstanzen entstehenden, in der Pepsinchlorwasserstoffsäure unlöslichen Stoffe, welche Verbindungen von Eiweiss mit Nucleïnsäure sind und bei weiterer Spaltung Xanthinkörper liefern.

Als *Paranucleïne* bezeichnet man nach Kossel die übrigen bei der Pepsinverdauung verschiedener Proteïnsubstanzen entstehenden nucleïnähnlichen Stoffe. Da aber diese Stoffe untereinander sehr verschiedenartig sein können und nur dasjenige gemeinsam haben, dass sie in gewisser Hinsicht den Nucleïnen ähneln, könnte man sie nach meiner Ansicht besser als *Pseudonucleïne* bezeichnen.

Nucleoalbumine sollte man nach meiner Ansicht nur solche phosphorhaltige Proteïnstoffe nennen, die wie das Caseïn keine Proteïde sind und bei der Pepsinverdauung ein Pseudonucleïn liefern.

Nucleoproteïde sollte man dagegen alle diejenigen Proteïde nennen, welche bei der Pepsinverdauung ausser verdautem Eiweis als Spaltungsproduct echtes Nucleïn liefern und die bei tieferer Zersetzung auch Nucleïnbasen geben.

Von dieser Auffassung bin ich ausgegangen, da ich in dem Vorigen die aus der Pankreasdrüse dargestellten sehr zusammengesetzten Proteïnsubstanzen als Nucleoproteïde bezeichnet habe.

Zur Chemie der pflanzlichen Zellmembranen.
(III. Abhandlung.)

Von

E. Schulze.

(Aus dem agricultur-chemischen Laboratorium des Polytechnikums in Zürich.)
(Der Redaction zugegangen am 31. December 1893.)

Unter obigem Titel habe ich in dieser Zeitschrift früher schon zwei Abhandlungen veröffentlicht[1]). In denselben wurden die unter Mitwirkung von E. Steiger, W. Maxwell und E. Winterstein von mir ausgeführten Untersuchungen beschrieben, deren wesentlicher Zweck es war, Aufschluss über die bei Hydrolyse der pflanzlichen Zellwandbestandtheile entstehenden Glucosen zu gewinnen. Von den Hauptresultaten dieser Untersuchungen dürfen vielleicht zwei als bemerkenswerth bezeichnet werden. Erstens fanden wir, dass viele Zellwandungen neben Cellulose gewisse Bestandtheile, die sog. Hemicellulosen, enthalten, welche durch heisse verdünnte Mineralsäuren weit leichter angegriffen werden als die Cellulose und dabei Galactose, Mannose, Arabinose und Xylose liefern. Zweitens zeigte sich, dass alle von uns untersuchten Cellulosepräparate gleich der Baumwolle bei der Hydrolyse Traubenzucker, daneben freilich in einigen Fällen auch Mannose und Xylose, lieferten. Für die aus diesem Befunde sich ergebende Schlussfolgerung, dass wahrscheinlich die Zellwandungen aller höheren Pflanzen eine in Traubenzucker überführbare Cellulose enthalten, ist inzwischen noch eine neue Stütze beigebracht worden, indem

[1]) Band 14, S. 227—273 und Band 16, S. 387—438.

E. Gilson[1]) auch bei der Hydrolyse von zwei aus Kohlpflanzen und aus Rüben dargestellten Cellulosepräparaten Traubenzucker erhielt.

Dass ich jenen beiden Abhandlungen jetzt eine dritte unter dem gleichen Titel folgen lasse, hat einen doppelten Grund. Erstens habe ich die Resultate einiger inzwischen von uns ausgeführten Untersuchungen mitzutheilen, welche hauptsächlich die Hemicellulosen betreffen und sich u. a. auch auf die Frage beziehen, durch welche Merkmale man die genannten Zellwandbestandtheile von den Cellulosen unterscheiden kann. Zweitens aber muss ich auf einige Aeusserungen eingehen, welche sich in der oben schon citirten Abhandlung E. Gilson's finden. Dieser Autor spendet zwar unseren Arbeiten ein Lob, indem er erklärt, dass dieselben viel dazu beigetragen haben, die Frage nach der Zusammensetzung der pflanzlichen Zellmembranen aufzuhellen; aber er tritt doch in einigen Punkten den von uns gemachten Angaben bezw. unseren Schlussfolgerungen entgegen. Betreffen seine Einwendungen auch nicht das, was ich oben als Hauptinhalt unserer Arbeiten bezeichnet habe, so kann ich dieselben doch um so weniger unbeantwortet lassen, als sie nach meiner Meinung unberechtigt sind.

Bei Ausführung der Versuche, deren Resultate ich im Folgenden mittheile, wurde ich von Herrn Dr. E. Winterstein aufs Beste unterstützt, wofür ich dem Genannten hier meinen Dank ausspreche.

A. Zur Kenntniss der Hemicellulosen.

Als Objecte für die in den beiden ersten Abhandlungen von mir beschriebenen Untersuchungen über die Hemicellulosen dienten die Samen der gelben Lupine, der Erbse, Wicke, Ackerbohne, Sojabohne, des Kaffees und der Dattel, ferner Cocosnuss- und Palmkernkuchen, sowie Weizen- und Roggenkleie. Sodann untersuchte E. Winterstein[2]) noch die in den Samen der Kapuzinerkresse (Tropäolum majus) und der

[1]) E. Gilson: La crystallisation de la cellulose et la composition chimique de la membrane cellulaire végétale. Diese Abhandlung findet sich in der Revue «La cellule», Bd. 9, 2. Heft, S. 397—440.

[2]) Diese Zeitschrift, Bd. 17, S. 375.

Pfingstrose (Päonia officinalis) neben Amyloid sich vorfindenden Hemicellulosen. Später haben wir auch die Samen der blauen Lupine (Lupinus angustifolius) sowie Maiskleie (gewonnen von den Samen von Zea Mays) und Sesamkuchen (gewonnen von den Samen von Sesamum indicum) auf Hemicellulosen untersucht. Die dabei erhaltenen Resultate theile ich im Folgenden in möglichster Kürze mit.

a) Sesamkuchen. Der Rückstand, welchen die fein gepulverten und entfetteten Sesamkuchen bei der Behandlung mit kalter, sehr verdünnter Natronlauge und darauffolgendem Auswaschen mit Wasser hinterliessen, lieferte beim Kochen mit $2\frac{1}{2}$proc. Schwefelsäure eine glucosehaltige Flüssigkeit; doch liess sich aus dieser Flüssigkeit, als sie nach den auch früher[1]) von uns verwendeten Verfahren verarbeitet wurde, ein krystallisirtes Zuckerpräparat nicht gewinnen. Ein besseres Resultat erhielten wir, als jener Rückstand noch mehrere Male mit kalter, verdünnter Natronlauge und ausserdem noch mit heissem Weingeist extrahirt worden war; das dabei ungelöst gebliebene lieferte beim Kochen mit $2\frac{1}{2}$ proc. Schwefelsäure eine Flüssigkeit, aus welcher eine krystallisirte Zuckerart sich abscheiden liess. Dieselbe erwies sich als eine Pentose, und zwar lag wahrscheinlich Arabinose vor. Die Untersuchung im Soleil-Ventzke'schen Polarisationsapparat, für welche allerdings eine Lösung von geringer Concentration verwendet werden musste, gab folgendes Resultat: Die wässerige Lösung, welche in 10 cbcm. 0,232 gr. wasserfreie Substanz enthielt, drehte im 200 mm.-Rohr nach 24stündigem Stehen 12,7° nach rechts; daraus berechnet sich $[\alpha]_D = + 94,7°$. Die frisch bereitete Lösung drehte weit stärker; es war also Birotation vorhanden. Das in bekannter Weise dargestellte Osazon zeigte den Schmelzpunkt des Arabinosazons[2]).

---

[1]) Vgl. die in dieser Zeitschrift, Bd. 14, S. 234 und 235, sowie Bd. 16, S. 393, von uns gemachten Angaben.

[2]) Wahrscheinlich enthielt die in oben beschriebener Weise dargestellte Flüssigkeit neben Arabinose noch andere Glucosen; anderenfalls wäre die Arabinose wohl leichter zum Krystallisiren zu bringen gewesen. Doch lieferte die Prüfung auf Galactose, Mannose und Traubenzucker negative Resultate.

Der in oben beschriebener Weise bei Extraction der Sesamkuchen mit Aether, verdünnter Natronlauge etc. verbliebene Rückstand lieferte nach dem Verfahren von de Chalmot und Tollens[1]) 6,64% Furfurol; sein Pentosangehalt berechnet sich danach auf 11,25%.

Da dieser Rückstand nach einer von Herrn Dr. Pfister, botanischem Assistent der hiesigen agricultur-chemischen Versuchsstation, auf meine Bitte ausgeführten mikroskopischen Untersuchung neben etwas Kalkoxalat nur Zellhäute einschloss, so kann es keinem Zweifel unterliegen, dass die in Pentose überführbare Substanz Zellwandbestandtheil ist.

b) Maiskleie. Die von uns verwendete Maiskleie bestand nur aus Theilen der Samenschalen und war so stickstoffarm, dass es unnöthig erschien, sie zur Entfernung der stickstoffhaltigen Stoffe mit Alkalilauge zu behandeln, wir haben sie nur mit Aether und Alkohol extrahirt, sodann zur Entfernung etwa anhängender Stärkekörner mit Malzextract behandelt und mit Wasser ausgewaschen, dann wurde sie mit 2proc. Schwefelsäure gekocht. Die dabei resultirende Glucose-Lösung lieferte, als sie nach bekannter Methode[2]) weiter verarbeitet wurde, einen leicht krystallisirenden Zucker, welcher als Xylose erkannt wurde. Er gab beim Erhitzen mit Phloroglucin und Salzsäure eine kirschrothe Flüssigkeit. Die Untersuchung im Soleil-Ventzke'schen Polarisationsapparat lieferte folgendes Resultat: Eine wässerige Lösung, welche in 10 cbcm. 0,555 gr. wasserfreie Substanz enthielt, drehte im 200 mm.-Rohr nach 24stündigem Stehen 6,9° nach rechts (bei 17° C.). Daraus berechnet sich $[\alpha]_D = + 21,5°$.

Das Präparat wurde nun noch einmal aus Weingeist umkrystallisirt. Die Untersuchung im Polarisationsapparat lieferte hierauf folgendes Resultat: Eine wässerige Lösung, welche in 10 cbcm. 0,4785 gr. wasserfreie Substanz enthielt, drehte unter den gleichen Versuchsbedingungen 5,6° nach rechts; daraus berechnet sich $[\alpha]_D = + 20,2°$. Für reine Xylose ist bekanntlich $[\alpha]_D = + 18-19°$ gefunden worden.

---

[1]) Ber. d. D. Chem. Gesellschaft, Bd. 24, S. 1694.

[2]) Vgl. die Anmerkung auf voriger Seite.

Die Mutterlauge von den Xylose-Krystallisationen enthielt wahrscheinlich eine geringe Menge von Galactose; denn sie gab bei der Oxydation durch Salpetersäure etwas Schleimsäure. Letztere war löslich in verdünnter Natronlauge, wieder fällbar durch Salpetersäure und schmolz im Kapillarröhrchen bei 214°.

Nach der Methode von de Chalmot und Tollens gab die zuvor mit den obengenannten Extractionsmitteln behandelte Maiskleie eine sehr beträchtliche Menge von Furfurol, wie aus folgenden Angaben zu ersehen ist:

1. 2,4549 gr. Trockensubstanz gaben 1,1624 gr. Hydrazon = 0,625 gr. oder 25,44 % Furfurol.
2. 2,4549 gr. Trockensubstanz gaben 1,1796 gr. Hydrazon = 0,6336 gr. oder 25,80 % Furfurol.

Der Pentosan-Gehalt der untersuchten Substanz berechnet sich daraus im Mittel auf 43,37 %.

Von der für die vorstehenden Versuche verwendeten Substanz löste sich bei nur einstündigem Kochen mit 1¼ proc. Schwefelsäure weit mehr als die Hälfte auf.

Dass der in Xylose überführbare Bestandtheil der Maiskleie in den Zellwandungen enthalten ist, ergab sich aus einer auf mein Ersuchen von Herrn Dr. Pfister ausgeführten mikroskopischen Untersuchung, nach welcher der bei Behandlung der genannten Kleie mit Aether, Malzextract, kalter sehr verdünnter Natronlauge und Wasser verbliebene Rückstand nur aus Zellhäuten bestand.

c) Samen der blauen Lupine. Es ist früher von uns nachgewiesen worden, dass die Samen der gelben Lupine Hemicellulosen enthalten, welche bei der Hydrolyse Galactose und eine Pentose (höchstwahrscheinlich Arabinose) liefern[1]. Dass die in den Samen der blauen Lupine enthaltenen Hemicellulosen die gleichen Zuckerarten liefern würden, liess sich von vornherein erwarten und dieser Erwartung entsprach auch der Befund. Dass wir die Samen dieser letzteren Lupinenvarietät noch in den Kreis unserer

---

[1]) Vgl. die beiden ersten Abhandlungen über die Chemie der Zellmembranen.

Untersuchungen gezogen haben, hat seinen Grund in einer schon vor längerer Zeit von M. Siewert[1]) gemachten Angabe, aus welcher man schliessen durfte, dass die genannten Samen weit reicher an Hemicellulosen sind, als diejenigen der gelben Lupine; die ersten schienen daher ein besonders günstiges Object für die Ermittelung der den Hemicellulosen zukommenden Eigenschaften zu sein. Ehe wir die für letzteren Zweck von uns gemachten Versuche beschreiben, seien die Ergebnisse mitgetheilt, welche wir bei Untersuchung der aus den bezüglichen Hemicellulosen entstehenden Zuckerarten erhielten.

Wir verarbeiteten die von den Schalen befreiten Samen genau in der gleichen Weise wie es früher für die Samen der gelben Lupine von uns beschrieben worden ist.[2]) Die dabei resultirende Glucose-Lösung war leicht zur Krystallisation zu bringen. Das so erhaltene Product wurde durch Umkrystallisiren gereinigt. Die bei Untersuchung von zwei Krystallfractionen erhaltenen Resultate bewiesen, dass Galactose vorlag. Die Prüfung im Polarisationsapparat lieferte folgende Ergebnisse:

I. Fraction. Eine wässerige Lösung, welche in 10 cbcm. 0,8900 gr. wasserfreie Substanz enthielt, drehte im 200 mm.-Rohr nach 24 stündigem Stehen 40,6° S.-V. nach rechts (bei 17° C.). Daraus berechnet sich $[\alpha]_D = + 78,9°$.

II. Fraction. Eine wässerige Lösung, welche in 10 cbcm. 0,484 gr. wasserfreie Substanz enthielt, drehte unter den gleichen Versuchsbedingungen 27,3° S.-V. nach rechts. daraus berechnet sich $[\alpha]_D = + 79,7°$.

Dieses Drehungsvermögen liegt demjenigen der Galactose[3]) sehr nahe.

Bei der Oxydation durch Salpetersäure lieferte der Zucker eine sehr grosse Quantität von Schleimsäure, 1,374 gr. gaben 0,959 gr. = 70% Schleimsäure. Bekanntlich liefert reine Galactose bei der Oxydation ungefähr 75% Schleim-

---

[1]) Zeitschr. des landwirthsch. Vereins der Provinz Sachsen, 1868, S. 316, 1869, S. 75.

[2]) Vgl. diese Zeitschrift, Bd. 16, S. 393.

[3]) Meissl (J. prakt. Chem., Bd. 22, S. 99) fand für eine 5proc. Lösung $[\alpha]_D = + 80,45°$ bei $17\frac{1}{2}°$ C.

säure. Der von uns erhaltene Zucker war also zweifellos Galactose.

Dass die Zellfaser der blauen Lupine auch ein Pentosan enthält, ist aus dem Resultat einer nach dem Verfahren von de Chalmot und Tollens ausgeführten Furfurolbestimmung (vergl. w. u.) zu schliessen. Demgemäss schloss das bei Hydrolyse der Hemicellulosen erhaltene Glucosegemenge eine Pentose ein: als ich jenes Gemenge mit wenig heissem Weingeist behandelte und die dabei resultirende Flüssigkeit über Schwefelsäure verdunsten liess, erhielt ich ein krystallisirtes Zuckerpräparat, welches mit Phloroglucin und Salzsäure die Reaction der Pentosen gab, aber begreiflicher Weise auch Galactose enthielt. Ohne Zweifel entstand bei der Hydrolyse der Hemicellulosen die Galactose in weit grösserer Quantität als die Pentose; ich habe die letztere daher auch nicht rein darstellen können, während es keine Schwierigkeit hatte, die Galactose durch Umkrystallisiren von der Pentose zu befreien.

Dass die Substanzen, welche im vorliegenden Falle bei der Hydrolyse Galactose und eine Pentose lieferten, Zellwandbestandtheile sind, ist nach einer von Herrn Dr. Pfister auf mein Ersuchen ausgeführten mikroskopischen Untersuchung zweifellos. Der bei Behandlung der entschälten und zerkleinerten Lupinen-Samen mit Aether und verdünnter Natronlauge verbleibende Rückstand, welcher beim Kochen mit Säure jene Glucosen liefert, besteht nach der mikroskopischen Untersuchung aus Zellhäuten und etwas Proteïnsubstanz. Es liess sich ferner unter dem Mikroskop nachweisen, dass die aus diesem Rückstand durch heisse verdünnte Schwefelsäure in Lösung zu bringende Substanz hauptsächlich oder vielleicht sogar ausschliesslich die Verdickungsschichten der Zellwandungen der Cotyledonen bildet.

Im Verein mit den schon länger bekannten Thatsachen geben die im Vorigen gemachten Mittheilungen einen Beweis für die grosse Verbreitung der Hemicellulosen, d. h. also der durch heisse verdünnte Mineralsäuren unter Glucosebildung leicht in Lösung zu bringenden Zellwandbestandtheile, in den

Pflanzensamen. Wir haben bis jetzt überhaupt keinen Samen gefunden, welcher nicht entweder in den Cotyledonen, bezw. im Endosperm oder in den Samenschalen Hemicellulosen enthielt. Es ist bemerkenswerth, dass die letzteren fast in jedem Falle bei der Hydrolyse ein Gemenge mehrerer Glucosen lieferten. Meistens fanden sich in diesen Glucosegemengen auch Pentosen vor, worin ein neuer Beweis für die schon in den Arbeiten von Tollens und seiner Schüler hervorgetretene grosse Verbreitung der Pentosane in den Pflanzen liegt. Aber auch Galactane, d. h. in Galactose überführbare Substanzen, fanden wir unter den Hemicellulosen in grosser Verbreitung vor; von allen durch uns untersuchten Objecten waren es nur drei, in denen Galactane völlig fehlten, nämlich die Sesamkuchen, sowie die Weizen- und Roggenkleie, während dagegen solche Substanzen nachgewiesen werden könnten in allen von uns untersuchten Leguminosensamen, in Dattelkernen, in Palmkern- und Cocosnusskuchen, in Maiskleie, in Kaffeebohnen und in den Samen von Tropäolum majus und von Päonia officinalis[1]).

Die grosse Verbreitung der Mannane, d. h. der in Mannose überführbaren Kohlenhydrate, in den pflanzlichen Zellwandungen ist bekanntlich durch R. Reiss bewiesen worden. Der Genannte fand in einer grossen Anzahl von Samen «Reservecellulose» vor, welche bei der Hydrolyse Mannose (Seminose) lieferte. Man muss wohl diese in Mannose überführbaren Zellwandbestandtheile theilweise zu den Hemicellulosen rechnen; denn wir fanden dieselben bei einigen Objecten, z. B. bei den Steinnüssen und Palmkernkuchen, leicht angreifbar durch heisse, stark verdünnte Mineralsäure[2]); andererseits enthalten z. B. die Kaffeebohnen ein Mannan, welches der Wirkung starkverdünnter Mineralsäuren grossen Widerstand entgegensetzt und sich daher noch in dem Rück-

[1]) Allerdings ist das characteristische Umwandlungsproduct, die Galactose, nicht in allen Fällen von uns isolirt worden. Bei einer Anzahl von Objecten haben wir auf das Vorhandensein derselben nur aus dem Entstehen von Schleimsäure geschlossen.

[2]) Vgl. die in dieser Zeitschrift, Bd. 16, S. 406, sowie Bd. 14, S. 261 und 262 von uns gemachten Angaben.

stand vorfindet, welcher bei längerem Kochen der fein zerriebenen und vorher noch mit Aether, Alkohol und kalter verdünnter Natronlauge extrahirten Kaffeebohnen übrig bleibt; diese Substanz muss man daher wohl nach der von mir vorgeschlagenen Eintheilung der Zellwandbestandtheile zu den Cellulosen rechnen[1]). Uebrigens ist allem Anschein nach auch das in den Steinnüssen enthaltene Mannan gegen heisse verdünnte Mineralsäuren doch bedeutend widerstandsfähiger, als es z. B. die Hemicellulosen der Leguminosensamen, sowie der Weizen-, Roggen- und Maiskleie sind.

Haben wir nun auch in einer beträchtlichen Anzahl von Fällen die bei Hydrolyse der Hemicellulosen entstehenden Glucosen identificirt, so können wir doch andererseits nicht behaupten, die chemische Beschaffenheit der genannten Zellwandbestandtheile völlig aufgeklärt zu haben. Der Lösung dieser Aufgaben stehen eigenartige Schwierigkeiten entgegen, wie ich schon in meiner zweiten Abhandlung hervorgehoben habe. Diese Schwierigkeiten beruhen u. A. darin, dass die Hemicellulosen Veränderungen erleiden, wenn man sie zur Trennung von den Cellulosen mittelst Säuren oder Alkalien aus den Zellfasern extrahirt; um über ihre ursprüngliche Beschaffenheit Aufschluss zu erhalten, muss man daher direct mit den Zellfasern experimentiren; die Deutung der dabei gemachten Beobachtungen ist aber dadurch erschwert, dass die Hemicellulosen in den Zellfasern mit anderen Substanzen gemengt sind.

Die Wahrnehmung, dass man aus den entschälten Samen der blauen Lupine ein an Hemicellulosen sehr reiches Zellfaser-Präparat darstellen kann, veranlasste uns, mit diesem Material noch einige Versuche anzustellen. Die Darstellung des bezüglichen Präparates geschah in folgender Weise: Die von den Schalen befreiten und fein zerriebenen Samen wurden mittelst Aethers entfettet und sodann zur Entfernung des grössten Theils der Eiweissstoffe mit höchst verdünnter kalter Natronlauge[2]) behandelt. Den dabei verbliebenen Rückstand

---

[1]) Vgl. jedoch auch den III. Abschnitt dieser Abhandlung.

[2]) Wir vertheilten das Samenpulver in Wasser und fügten dann unter beständigem Umrühren Natronlauge zu, bis die Flüssigkeit dauernd alkalisch blieb. Die Alkalinität dieser Flüssigkeit war eine höchst geringe.

erwärmten wir, nachdem er zuvor mit Wasser vollständig ausgewaschen worden war, mit Weingeist; dann wurde er aufs Filter gebracht, getrocknet und nun noch einmal mit Hilfe der Dreefs'schen Reibe so fein wie möglich zerrieben. Dann behandelten wir ihn einige Tage lang mit kalter 0,25 proc. Natronlauge und wuschen wieder mit Wasser bis zum Verschwinden der alkalischen Reaction aus. Hierauf wurde der Rückstand unter absoluten Alkohol gebracht und unter demselben einige Tage belassen. Dann brachten wir ihn wieder aufs Filter, wuschen ihn mit Aether aus und trockneten ihn über concentrirter Schwefelsäure.

Das in dieser Weise erhaltene Präparat bildete eine weisse, leicht zerreibliche, im Aussehen fast dem Stärkemehl gleichende, in Flüssigkeiten sehr stark aufquellende Masse. Die Zusammensetzung desselben war folgende[1]):

Proteïnstoffe (N × 6,25)	7,25 %[2]).
Stickstofffreie organische Substanzen	89,85 »
Asche	2,90 »
	100,— %.

[1]) Analytische Belege:

I. Stickstoffbestimmung:

a) 0,8858 gr. Substanz (wasserfrei in Rechnung gestellt) gaben nach der Kjeldahl'schen Methode 0,010364 gr. = 1,17 % N.

b) 0,8858 gr. Substanz (wasserfrei) gaben 0,10098 gr. = 1,14 % N.

II. Aschenbestimmung:

1,173 gr. Substanz (wasserfrei) gaben 0,034 gr. Asche.

[2]) Wie man sieht, war der Gehalt des Präparates an stickstoffhaltigen Substanzen noch ein relativ grosser, wenn derselbe freilich auch nur einen kleinen Bruchtheil von der ursprünglich vorhanden gewesenen grossen Proteïn-Quantität bildet. Man kann ihn verringern, wenn man bei der Extraction etwas stärkere Natronlauge, z. B. Lauge von 1—2 % Gehalt, anwendet. Wir extrahirten mit weit schwächerer Lauge, um sicher zu sein, dass nicht von den stickstofffreien Substanzen der Zellfaser viel gelöst wurde. Dass unser Präparat noch Eiweissstoffe enthielt, geht daraus hervor, dass bei der Behandlung mit Verdauungsflüssigkeit ungefähr $^3/_4$ der vorhandenen Stickstoffmenge in Lösung gingen. Völlig stickstofffrei haben wir solche Präparate auch bei Behandlung mit stärkerer Lauge niemals erhalten können.

Wie ausserordentlich gering der Cellulosegehalt dieses Präparats war, ergab sich aus den nach den Verfahren von W. Hoffmeister[1]), Lifschütz[2]) und Hoppe-Seyler[3]) ausgeführten Versuchen, über deren Details Folgendes mitzutheilen ist:

1. Wir behandelten eine abgewogene Substanzmenge mit dem von Hoffmeister zur Cellulosebestimmung verwendeten Gemisch von 10proc. Salzsäure und Kaliumchlorat. Der dabei verbliebene Rückstand wurde nach Hoffmeister's Vorschrift zuerst mit Wasser ausgewaschen, dann mit heisser verdünnter Ammoniakflüssigkeit behandelt, schliesslich getrocknet und gewogen; 100 Th. des Präparats (wasserfrei in Rechnung gestellt) gaben bei dieser Behandlung 4,4 Th. Rückstand[4]).

2. Wir behandelten eine abgewogene Substanzmenge 40 Stunden lang bei Zimmertemperatur mit der zehnfachen Quantität des von Lifschütz zur Isolirung der Cellulose verwendeten Gemenges von Schwefelsäure und Salpetersäure. Der dabei verbliebene Rückstand wurde mit Wasser ausgewaschen, mit einer verdünnten Sodalösung gekocht, dann wieder ausgewaschen, getrocknet und gewogen. 100 Th. des Präparats (wasserfrei in Rechnung gestellt) gaben dabei 3,9 Th. Rückstand[5]).

Eine abgewogene Substanzmenge wurde mit der drei- bis vierfachen Menge Aetzkali und wenig Wasser eine Stunde lang im Oelbade auf 180° erhitzt, das Reactionsproduct sodann in vorgeschriebener Weise behandelt. 100 Th. des Präparats gaben dabei 3,3% Rückstand[6]).

---

[1]) Landwirthsch. Jahrbücher, Bd. 17, S. 239,

[2]) Ber. d. D. Chem. Gesellschaft, Bd. 24, S. 1186.

[3]) Diese Zeitschrift, Bd. 13, S. 84; vgl. in Betreff dieser Methode auch die Arbeit von G Lange, diese Zeitschr., Bd. 14, S. 283.

[4]) Analytische Belege:
a) 2,860 gr. Substanz (wasserfrei) gaben 0,1408 gr. = 4,92% Rückstand.
b) 0,2863 gr. Substanz (wasserfrei) gaben 0,1100 gr. = 3,88% Rückstand.

[5]) Analytische Belege: 4,429 gr. Substanz (wasserfrei) gaben 0,172 gr. Rückstand.

[6]) Analytische Belege: 4,429 gr. Substanz (wasserfrei), mit 15 gr. Aetzkali und 15 cbcm. Wasser eine Stunde lang auf 180° erhitzt, gaben 0,1472 gr. Rückstand.

Zieht man aus diesen Zahlen das Mittel, so findet man, dass unser Präparat nur 3,9 % Cellulose enthielt. Die Summe der für Cellulose, Proteïnstoffe und Asche gefundenen Zahlen beträgt 14,0 %; auf andere organische Substanzen fielen also 86 %. Es ist anzunehmen, dass diese anderen Substanzen, wenn nicht ganz ausschliesslich, so doch wenigstens der Hauptsache nach Hemicellulosen waren. Dieser Annahme entspricht auch die Gewichtsabnahme, welche unser Präparat beim Kochen mit 1¼ proc. Schwefelsäure erlitt; bei nur einstündiger Kochdauer betrug diese Gewichtsabnahme 85,2 %, bei zweistündiger Kochdauer 87 %[1]). Dabei ist jedoch zu berücksichtigen, dass beim Kochen mit der Säure auch etwas stickstoffhaltige Substanz sowie der grösste Theil der Aschenbestandtheile aufgelöst worden war[2]); subtrahirt man die bezüglichen Beträge von den im Ganzen in Lösung gegangenen Substanzmengen, so ergibt sich, dass die beim Kochen mit verdünnter Schwefelsäure gelöste stickstofffreie Substanz je nach der Dauer des Erhitzens 80,1 % oder 81,9 % von der Trockensubstanz des Zellfaserpräparates betrug.

Wir suchten nun festzustellen, in wie weit die in Lösung gegangene stickstofffreie Substanz sich in der beim Kochen mit Säure gebildeten Glucosemenge wiederfand. In zwei Parallel-

---

[1]) Analytische Belege: 1 gr. des Zellfaser-Präparats (= 8858 gr. wasserfrei) lieferte beim Kochen mit 200 cbcm. 1¼ proc. Schwefelsäure.

A) bei einstündigem Kochen { a) 0,1300 gr Rückstand / b) 0,1320 » » } im Mittel 0,1310 gr.

B) » zweistündigem » { a) 0,1154 » » / b) 0,1150 » » } im Mittel 0,1152 gr.

[2]) Den Beweis dafür liefern folgende Angaben: a) Die Stickstoffmenge, welche in dem bei 1 stündigem Kochen des Zellfaserpräparats mit 1¼ proc. Schwefelsäure verbliebenen Rückstand sich noch vorfand, betrug im Mittel aus zwei Bestimmungen 0,79 %, bezogen auf die Trockensubstanz des Zellfaserpräparats, = 4,94 % Proteïnsubstanz. Da das Präparat ursprünglich 1,16 % Stickstoff = 7,25 % Proteïnsubstanz enthalten hatte, so waren demnach durch die Säure 2,23 % Proteïn aufgelöst werden. b) Der beim Kochen von 2,053 gr. des Zellfaserpräparats mit Schwefelsäure verbliebene Rückstand enthielt noch 0,002 gr. = 0,10 % Asche. Da das Präparat ursprünglich 2,90 % Asche enthalten hatte, so waren durch die Säure 2,80 % Asche aufgelöst worden.

versuchen wurde die bei einstündigem Kochen von 1,0 gr. des Zellfaserpräparats (= 0,8858 gr. wasserfrei) mit 200 cbcm. $1^{1}/_{4}$ proc. Schwefelsäure entstandene Flüssigkeit nach der Filtration durch Eindunsten so weit concentrirt, dass ihr Säuregehalt $2^{1}/_{2}$ % betrug, sodann zur Vollendung der Verzuckerung 3 Stunden am Rückflusskühler gekocht und schliesslich auf 100 cbcm. gebracht. 20 cbcm. dieser Flüssigkeit gaben nach Allihn's Methode:

Versuch a) 0,2530 gr. Cu,
» b) 0,2542 » »

Mittel 0,2536 gr. Cu.

Dieser Kupferquantität entsprechen 0,1312 gr. Dextrose. Da aber die zur Untersuchung gelangte Flüssigkeit nicht Dextrose, sondern ein Glucosegemenge enthielt, in welchem Galactose stark prävalirte, so wird man ein der Wahrheit sich am meisten näherndes Resultat erhalten, wenn man den in der Flüssigkeit vorgefundenen Zucker als Galactose in Rechnung stellt. Den obigen 0,2536 gr. Cu entsprechen aber 0,1373 gr. Galactose[1]). Legt man diese Zahl der Berechnung zu Grunde, so findet man, dass in der ganzen Flüssigkeit 0,6865 gr. Glucose enthalten waren. Diese Quantität beträgt 77,5 % der Trockensubstanz des Zellfaserpräparats oder 96,8 % der aus letzterem Präparat beim Kochen mit der verdünnten Schwefelsäure in Lösung gebrachten stickstofffreien Substanz[2]).

Die Glucosemenge hätte eigentlich nicht kleiner, sondern grösser sein müssen, als die Quantität der gelösten stickstofffreien Substanz; denn die Umwandlung der letzteren in Glucose ist ja mit Wasseraufnahme verbunden[3]). Es ist nun aber

[1]) Nach der von E. Steiger (Zeitschr. f. analytische Chemie, Bd. 28, S. 444) ausgearbeiteten Tabelle.

[2]) Berechnet man dagegen den Glucose-Gehalt der Flüssigkeit nach der Dextrose-Tabelle, so findet man, dass die Glucose 92,4 % von der in Lösung gegangenen stickstofffreien Substanz ausmacht. Letztere Zahl ist aus dem oben angegebenen Grunde vermuthlich zu niedrig, während die unter Zugrundelegung der Galactosetabelle berechnete Zahl vielleicht etwas zu hoch ist.

[3]) Es sei daran erinnert, dass aus 100 Th. eines nach der Formel $C_6H_{10}O_5$ zusammengesetzten Kohlenhydrats 111 Th. Glucose, aus 100 Th. eines Kohlenhydrats von der Formel $C_{12}H_{22}O_{11}$ 105,3 Th. Glucose entstehen können.

darauf aufmerksam zu machen, dass man beim Kochen eines unlöslichen Kohlenhydrats mit verdünnter Schwefelsäure fast niemals die der Theorie entsprechende Glucosemenge vollständig erhalten hat[1]) und der Grund dafür ist durch neuere Untersuchungen ans Licht gebracht worden; man weiss jetzt, dass bei längerem Erhitzen eines invertirbaren Kohlenhydrats mit Säure nicht nur ein Theil der entstandenen Glucose zerstört werden, sondern auch die Inversion von einem in seiner Wirkung entgegengesetzten Vorgang, der sog. Reversion, begleitet sein kann. Die Differenz, welche sich im vorliegenden Falle zwischen der wirklich erhaltenen und der theoretisch möglichen Glucosequantität findet, ist nicht so gross, dass sie nicht auf diese Verlustquelle zurückgeführt werden könnte und es steht demnach das von uns erhaltene Resultat auch nicht im Widerspruch mit der Annahme, dass die Hemicellulosen Anhydride von Glucosen sind.

Dass in den bei der Hydrolyse der Hemicellulosen erhaltenen Glucosegemenge die Galactose stark prävalirte, liess sich in folgender Weise nachweisen: Eine abgewogene Quantität des Zellfaserpräparats wurde eine Stunde lang mit 1¼ proc. Schwefelsäure gekocht, die Lösung sodann mittelst Barythydrats von der Schwefelsäure befreit und im Wasserbade zum Syrup eingedunstet; diesen Syrup erhitzten wir unter Befolgung der von Tolleus und seinen Mitarbeitern gegebenen Vorschriften mit Salpetersäure und bestimmten die dabei entstandene Schleimsäurequantität. Unter der Annahme, dass 100 Th. Galactose 75 Th. Schleimsäure liefern, kann man aus der Schleimsäurequantität die Menge der vorhanden gewesenen Galactose berechnen. Die Letztere betrug nach dieser Rechnung 48,23 % der Trockensubstanz des Zellfaserpräparats[2]). Da nun dieses Präparat bei der Hydrolyse

---

[1]) Dies gilt nach Allihn auch für das Stärkemehl, wenn auch bei diesem die Differenz relativ gering ist. M. vgl. in dieser Frage auch E. Winterstein's Abhandlung «Ueber die Inversion einiger Kohlenhydrate», Landw. Versuchsstationen, Bd. 41, S. 375.

[2]) Analytische Belege: a) 4,429 gr. des Zellfaserpräparats (wasserfrei in Rechnung gestellt) gaben 1,670 gr. Schleimsäure (dieselbe

ungefähr 77 % Glucose lieferte, so berechnet sich, dass 62 bis 63 % dieser Glucose Galactose waren. Wahrscheinlich ist die Galactosemenge in Wirklichkeit noch etwas grösser gewesen; denn die Galactose liefert meistens etwas weniger als 75 % Schleimsäure, wenn sie nicht als reines Präparat, sondern im Gemenge mit anderen Substanzen durch Salpetersäure oxydirt wird.

Dass die neben der Galactose bei Hydrolyse der Hemicellulose entstandene Pentose der Quantität nach gegenüber der ersteren stark zurückstand, ist aus einer Furfurolbestimmung zu schliessen, für welche das Zellfaserpräparat als Object diente. Aus dieser Bestimmung berechnet sich für das genannte Präparat ein Gehalt von 7,02 % Pentosan = 8,0 % Pentose[1]). Die Letztere kann demnach nicht viel mehr als 10 % des aus den Hemicellulosen entstandenen Glucosegemenges ausgemacht haben.

Es ist daher auch möglich, dass dieses Glucosegemenge neben Galactose und einer Pentose noch eine andere Zuckerart einschloss. Doch lieferte die Prüfung sowohl auf Traubenzucker wie auf Mannose ein negatives Resultat.

Aus den im Vorigen gemachten Mittheilungen ist zu schliessen, dass die in den Cotyledonen der blauen Lupine enthaltene Hemicellulose ein Galactan und ein Pentosan einschloss, von denen das letztere jedoch in weit geringerer Menge sich vorfand als das erstere. Was ihr Verhalten betrifft, so stimmte dasselbe mit demjenigen der in den Cotyledonen der gelben Lupine enthaltenen Hemicellulose überein. Sie löste sich rasch in heisser, stark verdünnter Schwefelsäure, langsam schon in 10proc. Salzsäure; durch kalte 5proc. Natronlauge wurde sie langsam angegriffen,

---

gab beim Verbrennen nur eine Spur von Asche). b) 4,429 gr. des Zellfaserpräparats (wasserfrei) gaben 1,534 gr. Schleimsäure. Im Mittel wurden also 1,602 gr. Schleimsäure = 2,136 gr. Galactose erhalten.

[1]) Analytische Belege: a) 1,7716 gr. des Zellfaserpräparats (wasserfrei) gaben 0,1900 gr. Hydrazon. b) 1,7716 gr. des Zellfaserpräparats (wasserfrei) gaben 0,1950 gr. Hydrazon. Daraus berechnet sich ein durchschnittlicher Gehalt von 7,02 % Pentosan.

löste sich darin aber beim Kochen ziemlich schnell auf. Bei der Behandlung mit Diastase lieferte sie keinen Zucker. Dass sie den zur Isolirung der Cellulose von Hoffmeister, Lifschütz und Hoppe-Seyler verwendeten Agentien nicht zu widerstehen vermochte, ist aus den oben von uns mitgetheilten Versuchsergebnissen zu ersehen. Das Gleiche gilt auch für die Hemicellulose, welche in den Cotyledonen von Lupinus luteus sich findet.

Die in den Lupinensamen enthaltenen Hemicellulosen sind ausgezeichnet durch geringe Widerstandsfähigkeit gegen Säuren sowohl wie gegen Oxydationsmittel; sie unterscheiden sich im Verhalten gegen diese Agentien nur wenig vom Stärkemehl. Doch stehen die in der Weizen-, Roggen- und Maiskleie enthaltenen Hemicellulosen in dieser Hinsicht der ersteren nur wenig nach. Andere Hemicellulosen dagegen, z. B. diejenige der Palmkernkuchen, wurden in den von uns ausgeführten Versuchen durch die bei der Hoffmeister'schen Cellulosebestimmung verwendeten Agentien nur partiell zerstört, wie daraus hervorgeht, dass der aus diesem Object nach Hoffmeister's Verfahren erhaltene Celluloserückstand an kochende $1\frac{1}{4}$ proc. Schwefelsäure noch beträchtliche Substanzmengen abgab[1]). Man kann demnach nicht behaupten, dass alle Zellwandbestandtheile, welche wegen ihrer Leichtlöslichkeit in heissen, verdünnten Mineralsäuren zu den Hemicellulosen gerechnet werden können, bei Behandlung der Zellfasern mit den oben genannten Agentien vollständig entfernt werden.

B. Ueber die Mannoso-Cellulose.

In meiner zweiten Abhandlung habe ich mitgetheilt, dass die aus Kaffeebohnen, Sesamkuchen und Cocosnusskuchen dargestellten Cellulosepräparate bei der Hydrolyse neben Traubenzucker Mannose lieferten. Den in die letztere Zuckerart überführbaren Bestandtheil dieser Präparate, dessen Isolirung von mir nicht versucht wurde, habe ich zur Unter-

---

[1]) Die bezüglichen Versuche habe ich in einer Abhandlung beschrieben, welche unter dem Titel «Zur Kenntniss der in den pflanzlichen Zellwandungen enthaltenen Kohlenhydrate» in den Landwirthsch. Jahrbüchern, 1894, Heft 1, sich findet.

scheidung von der Dextroso-Cellulose Mannoso-Cellulose genannt[1]). Eine Isolirung dieses Bestandtheiles lässt sich nun nach Gilson's[2]) Angaben in folgender Weise erreichen: Man löst die aus Kaffeebohnen dargestellte Cellulose in Kupferoxydammoniak und leitet in die Lösung eine Zeit lang Kohlensäure ein. Was sich dabei abscheidet, ist gewöhnliche Cellulose; das in Mannose überführbare Kohlenhydrat bleibt in Lösung[3]). Es lässt sich daraus gewinnen, indem man die Lösung im Wasserbade eindunstet und den dabei verbleibenden Rückstand mit sehr verdünnter Salzsäure behandelt; letztere löst das Kupfer auf, während das genannte Kohlenhydrat als weisse Masse zurückbleibt; das so gewonnene Product liefert nach Gilson's Versuchen bei der Hydrolyse nur Mannose. Mit Chlorzinkjod gibt es aber keine Blaufärbung; Gilson will es daher nicht Mannoso-Cellulose, sondern Paramannan nennen.

Auf Grund dieser Versuchsergebnisse sagt Gilson auf Seite 434 seiner Abhandlung: «La mannosocellulose de E. Schulze est un mélange de cellulose et d'un autre hydrate de carbone, le paramannane». Gegen diese Behauptung muss ich protestiren. Offenbar nimmt Gilson an, dass von mir die aus Kaffeebohnen u. s. w. dargestellten Cellulose-Präparate, welche nach meinen Untersuchungen bei der Hydrolyse neben Traubenzucker Mannose liefern, als Mannoso-Cellulose bezeichnet worden seien. Diese Annahme ist aber eine irrige; ich habe jenen Namen, wie oben schon erwähnt wurde, nur für einen von mir nicht isolirten Bestandtheil jener Cellulose-Präparate gebraucht. Der Beweis dafür wird durch verschiedene Stellen meiner Abhandlung

---

[1]) Es ist hier daran zu erinnern, dass die Existenz eines in Mannose (Seminose) überführbaren Zellwandbestandtheils in den Kaffeebohnen schon früher durch R. Reiss (Landwirthsch. Jahrbücher, Bd. 18, S. 716) nachgewiesen wurde und dass der Genannte diesen Bestandtheil zur Reservecellulose rechnet.

[2]) M. vgl. die citirte Abhandlung, S. 430 ff.

[3]) Doch gelingt, wie Gilson angibt, die völlige Trennung der beiden Substanzen nur dann, wenn das Einleiten von Kohlensäure nicht zu lange und nicht zu kurze Zeit gedauert hat. In ersterem Falle wird auch das in Mannose überführbare Kohlenhydrat gefällt; dagegen bleibt ihm Cellulose beigemengt, wenn man nicht genug Kohlensäure eingeleitet hat.

gegeben. So heisst es z. B. in meiner zweiten Abhandlung «Zur Chemie der pflanzlichen Zellmembranen» auf Seite 428: «Mit dem Namen Mannoso-Cellulose bezeichne ich die in den Kaffeebohnen sowie in den Cocos und Sesamkuchen enthaltene celluloseähnliche Substanz, welche bei der Hydrolyse Mannose liefert,» — während ich doch, wenn Gilson's Auffassung die richtige wäre, die Mannoso-Cellulose als einen Körper hätte definiren müssen, welcher bei der Hydrolyse Mannose und Traubenzucker liefert. In derselben Abhandlung sage ich in dem Rückblick auf die Resultate auf Seite 437 Folgendes: «Eine in Traubenzucker überführbare Cellulose (Dextroso-Cellulose) scheint in den Zellwandungen allgemein verbreitet zu sein. Denn alle von uns untersuchten Cellulose-Präparate lieferten bei der Hydrolyse Traubenzucker». Diesen mit Gilson's Schlussfolgerung vollkommen übereinstimmenden Satz hätte ich nicht aussprechen können, wenn ich, wie Gilson annimmt, unter der Bezeichnung Mannoso-Cellulose einen bei der Hydrolyse zugleich Traubenzucker und Mannose gebenden Zellwandbestandtheil verstanden hätte; ich hätte dann doch sagen müssen, dass in den Zellwandungen der Kaffeebohnen, sowie der Sesamsamen und Cocosnüsse die Dextrosocellulose durch Mannoso-Cellulose ersetzt sei und dass demnach die erstere keine allgemeine Verbreitung habe. Ferner habe ich in der gleichen Abhandlung[1]) schon die Beweise dafür gebracht, dass die aus Kaffeebohnen dargestellten Cellulose-Präparate nicht als einheitliche Substanzen betrachtet werden können; denn ein solches Präparat lieferte bei der Hydrolyse einen Glucose-Syrup, welcher stark rechts drehend war, ein anderes dagegen einen nur sehr schwach nach rechts drehenden Glucose-Syrup. Man wird aber doch nicht annehmen wollen, dass ich für Substanzen, welche nach meinen eigenen Untersuchungen Gemenge sind, einen neuen Namen vorschlage.

Da mir die Mannoso-Cellulose nicht als isolirte Substanz, sondern nur im Gemenge mit Dextroso-Cellulose vorlag, so war es mir selbstverständlich unmöglich, ihre Eigenschaften

---

[1]) Vgl. S. 425 und 426.

vollständig kennen zu lernen[1]); doch konnte ich aus dem Verhalten der Cellulose-Präparate, in denen jene Substanz enthalten war, den Schluss ziehen, dass dieselbe durch heisse stark verdünnte Mineralsäuren nur langsam angegriffen wird, dass sie dem F. Schulze'schen Reagens widersteht und dass sie sich in Kupferoxydammoniak sowie in einem Gemisch von Chlorzink und concentrirter Salzsäure auflöst. Im Hinblick auf dieses Verhalten, durfte ich die genannte Substanz wohl für einen celluloseähnlichen Körper erklären. Sollte man aber der Ansicht sein, dass die von mir erwähnten Thatsachen dazu noch nicht das volle Recht geben, so wird man doch im Hinblick auf die im Folgenden von mir mitgetheilten Versuchsergebnisse zugeben müssen, dass die Substanz, von welcher hier die Rede ist, der gewöhnlichen Cellulose sehr nahe verwandt ist, und dass man daher für dieselbe auch einen Namen wählen darf, durch welchen dieser Verwandschaft Ausdruck gegeben wird.

Zunächst ist darauf aufmerksam zu machen, dass die von Gilson als Paramannan bezeichnete Substanz wahrscheinlich mit der Mannoso-Cellulose nicht identisch, sondern vielmehr ein Hydrat der letzteren ist. Denn Gilson fand für das über Schwefelsäure oder bei 105° getrocknete Paramannan eine Elementarzusammensetzung, welche ungefähr der Formel $C_{12}H_{22}O_{11}$ entspricht, nämlich:

	Ueber Schwefelsäure getrocknet	Bei 105° getrocknet.	Mittel.
C . . .	41,63 %	41,55 %	41,59 %
H . . .	6,74 »	6,52 »	6,63 »
O . . .	51,63 »	51,93 »	51,78 »

[1]) Ich vermochte also auch nicht mit Sicherheit zu entscheiden, ob die Mannoso-Cellulose durch Jod und Schwefelsäure blau gefärbt wird. Doch schien es mir sehr wahrscheinlich, dass dies der Fall ist. Denn ein aus einem Gemenge von Mannose-Cellulose und Dextrose-Cellulose bestehendes Kaffeecellulose-Präparat wurde durch das genannte Reagens eben so intensiv blau gefärbt wie ein reines Präparat von gewöhnlicher Cellulose. Ich komme auf dieses Verhalten der bezüglichen Präparate w. u. noch einmal zurück.

während ein aus Kaffeebohnen dargestelltes Cellulose-Präparat, also ein Gemenge von Mannoso-Cellulose und Dextroso-Cellulose, nach der von E. Winterstein ausgeführten Analyse eine Zusammensetzung besass, welche ungefähr der Formel $C_6H_{10}O_5$ entspricht.[1])

Es schien mir angezeigt, noch ein zweites Präparat von Kaffeebohnen-Cellulose der Analyse zu unterwerfen. Ich habe daher aus einem neuen Muster von Kaffeebohnen ein solches Präparat in folgender Weise dargestellt: Die Bohnen wurden möglichst fein zerkleinert, mit Aether entfettet, hierauf mit 90proc. Weingeist ausgekocht. Der dabei verbliebene Rückstand wurde noch einmal zerrieben, sodann wiederholt mit kalter verdünnter Ammoniakflüssigkeit extrahirt. Den braungrünen Extract entfernte ich durch Abhebern, wusch das Ungelöste bis zum Verschwinden der alkalischen Reaction mit Wasser aus und kochte es sodann zwei Stunden lang mit $1^1/_4$proc. Schwefelsäure. Die bei dieser Behandlung verbliebene Masse setzte ich zunächst der Einwirkung des von Hoffmeister (loc. cit.) bei der Cellulosebestimmung verwendeten Gemisches von kalter 10proc. Salzsäure und Kaliumchlorat aus und behandelte sie sodann in der von Hoffmeister vorgeschriebenen Weise mit heisser verdünnter Ammoniakflüssigkeit; dann wurde sie successive mit Wasser, Alkohol und Aether ausgewaschen und hierauf zuerst über Schwefelsäure, dann im Luftbade getrocknet. Das so gewonnene Cellulose-Präparat, welches keine nachweisbare Stickstoffmenge enthielt und bei der Verbrennung nur 0,59 % Asche hinterliess, lieferte bei der Hydrolyse mittelst 75proc. Schwefelsäure nach dem Verfahren von Flechsig einen Glucosesyrup, welcher sehr reich an Mannose war; aus einer mässig verdünnten kalten wässerigen Lösung dieses Syrups schied sich auf Zusatz von essigsaurem Phenylhydrazin ein krystallinisches Hydrazon in so grosser Menge aus, dass das Gemisch breiartig wurde; das aus verdünntem Weingeist umkrystallisirte Produkt schmolz im Capillarröhrchen gleichzeitig mit einem aus Steinnüssen

---

[1]) Diese Zeitschrift, Bd. 16, S. 430. Für das bei 105° getrocknete Präparat ergab sich ein Gehalt von 44,77 % C, 6,35 % H und 48,88 % O.

dargestellten Präparat des Hydrazons der Mannose. Um festzustellen, wie viel Mannose ungefähr in dem Syrup sich vorfand, führte ich folgenden Versuch aus: Eine durch Aufnehmen in kochendem Weingeist und darauffolgende Filtration von Beimengungen so weit wie möglich befreite Probe des Glucose-Syrups wurde durch Eindunsten im Wasserbade und darauffolgendes mehrtägiges Stehen über concentrirter Schwefelsäure vom Wasser so weit wie möglich befreit, dann gewogen. Hierauf löste ich die Probe in Wasser, setzte der Lösung eine Solution von essigsaurem Phenylhydracin zu, sammelte das nach kurzer Zeit sich ausscheidende Hydrazon auf einem getrockneten und gewogenen Filter und wusch es mit kaltem Wasser aus; das Filter mit seinem Inhalt wurde sodann zuerst über concentrirte Schwefelsäure und schliesslich bei 100° im Luftbade getrocknet. Aus 1,5 gr. des Glucose-Syrups erhielt ich in diesem Versuch 1,324 gr. des Mannose-Hydrazons = 0,883 gr. Mannose. Da nun der verwendete Glucose-Syrup zweifellos noch etwas Wasser einschloss, so muss derselbe beträchtlich mehr Mannose enthalten haben, als Traubenzucker.

Die Elementaranalyse des für diese Versuche verwendeten Cellulose-Präparats, deren Ausführung ich wieder der Gefälligkeit des Herrn Dr. E. Winterstein verdanke, gab für die bei 105° getrocknete Substanz Zahlen, welche zwar mit den früher erhaltenen nicht ganz genau übereinstimmen (was in Anbetracht des Umstandes, dass die beiden Präparate nicht genau in der gleichen Weise dargestellt waren, auch nicht auffallen kann), aber doch wiederum den von der Formel $C_6H_{10}O_5$ geforderten Werthen nahe liegen, wie folgende Zusammenstellung beweist[1]):

	Gefunden:				Berechnet für
	1.	2.	3.	Mittel:	$C_6H_{10}O_5$:
C	43,76	44,04	44,11	43,97	44,44 %
H	6,47	6,56	6,58	6,54	6,17 »
O	—	—	—	—	49,39 »

[1]) Analytische Belege: a) 0,28413 gr. wasserfreie Substanz (aschenfrei in Rechnung gestellt) gaben 0,4560 gr. CO_2 und 0,1862 gr. H_2O. b) 0,2385 gr. wasserfreie Substanz (aschenfrei in Rechnung gestellt) gaben 0,3848 gr. CO_2 und 0,1520 gr. H_2O. c) 0,3110 gr. wasserfreie Substanz (aschenfrei in Rechnung gestellt) gaben 0,5030 gr. CO_2 und 0,2027 gr. H_2O.

Zieht man das Mittel aus den bei Analyse der beiden Kaffeebohnencellulosen-Präparate erhaltenen Zahlen, so ergibt sich, dass für diese Cellulose ein Gehalt von 44,37 % C, 6,46 % H und 49,17 % O gefunden wurde, während Gilson für das Paramannan im Mittel 41,59 % C, 6,63 % H und 51,78 % O fand. Es ist daher sehr wahrscheinlich, dass die Mannoso-Cellulose mit der gewöhnlichen Cellulose isomer und dass das Paramannan ein aus der Mannoso-Cellulose durch Wasseraufnahme entstandenes Product ist. Bei dieser Sachlage aber kann man auch nicht erwarten, dass die beiden Substanzen in ihren Eigenschaften vollständig übereinstimmen, und es gelten die über die Eigenschaften des Paramannans angestellten Beobachtungen nicht ohne Weiteres für die Mannoso-Cellulose.

Wir haben ferner das Verhalten der Mannoso-Cellulose gegen die Agentien, welche man bei Darstellung der Cellulose-Präparate zur Zerstörung der neben Cellulosen in den Zellwandungen enthaltenen Substanzen verwendet, noch vollständiger untersucht, als es früher geschehen ist, und zwar liessen wir auf den Rückstand, welcher bei Extraction der Kaffeebohnen mit Aether, Alkohol verdünnter Ammoniakflüssigkeit und heisser 1¼ proc. Schwefelsäure (vgl. oben) übrig geblieben war, nicht nur Hoffmeister's Gemisch von 10 proc. Salzsäure und Kaliumchlorat sowie die von Lifschütz (loc. cit.) verwendete Schwefelsäure und Salpetersäure einwirken, sondern erhitzten denselben auch nach Hoppe-Seyler's Methode mit Aetzkali und wenig Wasser auf 180°.

Dass Hoffmeister's Gemisch von Salzsäure und Kaliumchlorat und die darauffolgende Behandlung mit heisser, verdünnter Ammoniakflüssigkeit, die Mannoso-Cellulose nicht auflöste, geht aus den oben von mir gemachten Angaben hervor; ein nach Hoffmeister's Verfahren dargestelltes Kaffeebohnencellulose-Präparat erwies sich als sehr reich an dem in Mannose überführbaren Bestandtheil.

Den Versuch mit dem Lifschütz'schen Gemisch von Schwefelsäure und Salpetersäure führten wir in folgender Weise aus: 10 gr. des Kaffeebohnenrückstands wurden mit 100 cbcm. des angegebenen Säuregemisches übergossen und

mit demselben 40 Stunden lang bei Zimmertemperatur unter häufigem Umschütteln in Berührung gelassen. Das Ungelöste wurde zuerst mit kaltem, dann mit heissem Wasser ausgewaschen, hierauf mit einer verdünnten Sodalösung gekocht, schliesslich auf ein Filter gebracht, mit Wasser vollständig ausgewaschen und getrocknet. Das so gewonnene Cellulose-Präparat gab bei der Hydrolyse mittelst starker Schwefelsäure nach Flechsig's Verfahren einen Glucose-Syrup, welcher reich an Mannose war; derselbe gab mit Bleiessig eine starke Fällung und lieferte auf Zusatz von essigsaurem Phenylhydrazin in der Kälte ein krystallinisches Hydrazid in reichlicher Menge.

Ueber den Versuch nach Hoppe-Seyler's Methode ist Folgendes anzugeben: Wir erhitzten 10 gr. des Kaffeebohnenrückstandes mit 30 gr. Aetzkali und 10 cbcm. Wasser[1]) in einem geeigneten Glasgefäss eine Stunde lang im Oelbade auf 180°. Das Reactionsproduct wurde sodann mit viel Wasser behandelt, die Flüssigkeit mit Säure neutralisirt. Die Cellulose setzte sich bald zu Boden; sie wurde zuerst durch Decantiren, dann auf dem Filter ausgewaschen und getrocknet. Das Gewicht derselben betrug ungefähr 2 gr. Bei der Hydrolyse nach Flechsig's Verfahren lieferte sie einen Glucose-Syrup, welcher reich an Mannose war. Derselbe gab Fällungen mit Bleiessig und mit essigsaurem Phenylhydrazin in der Kälte. Die letztere Fällung war krystallinisch und bildete nach dem Umkrystallisiren aus verdünntem Weingeist kleine Tafeln, deren Schmelzpunkt bei 192° lag.

Ich habe somit nachgewiesen, dass der von mir als Mannoso-Cellulose bezeichnete Bestandtheil der Kaffeebohnen weder durch F. Schulze'sches Reagens noch durch Hoffmeister's Gemisch von Salzsäure und Kaliumchlorat, noch durch das von Lifschütz angegebene Gemisch von Schwefelsäure und Salpetersäure, noch durch Erhitzen mit Aetzkali auf 180° zerstört wird[2]). Diese Thatsachen aber geben

[1]) Wir hielten uns an die von G. Lange (loc. cit.) für die Ausführung dieser Methode gegebene Vorschrift.

[2]) Ob etwa durch Erhitzen mit Aetzkali ein Theil der Mannoso-Cellulose zerstört wird, ist eine Frage, welche wir einer Prüfung nicht unterworfen haben.

mir das volle Recht, denselben für eine celluloseähnliche Substanz zu erklären.

Auch die jetzt von mir dargestellte Kaffeebohnen-Cellulose, in welcher sich zweifellos mehr Mannoso-Cellulose als Dextroso-Cellulose vorfand, färbte sich ebenso wie die früher erhaltenen Präparate mit Jod und Schwefelsäure oder Chlorzinkjod ebenso stark blau, wie ein nur aus Dextroso-Cellulose bestehendes reines Präparat. Spricht dies dafür, dass die Mannoso-Cellulose sich im Verhalten gegen die genannten Reagentien nicht von der Dextroso-Cellulose unterscheidet, so scheint doch dieser Schlussfolgerung die von Gilson gemachte Angabe entgegenzustehen, dass das Paramannan durch jene Reagentien nicht gefärbt wird. Als entscheidend in dieser Frage kann aber auch die letztere Beobachtung nicht betrachtet werden; denn es liegt im Bereich der Möglichkeit, dass die Mannoso-Cellulose bei der Ueberführung in ein Hydrat (Paramannan) die Eigenschaft, durch die Jodreagentien blau gefärbt zu werden, verloren hat.

Ich vermag also über das Verhalten der Mannoso-Cellulose gegen die jodhaltigen Reagentien etwas Bestimmtes nicht auszusagen. Gesetzt aber auch, dass die genannte Substanz durch diese Reagentien nicht blau gefärbt wird, so kann man sie dennoch als einen celluloseähnlichen Körper bezeichnen. Denn man pflegt bei der Classification der chemischen Verbindungen solchen Farbenreactionen keine ausschlaggebende Bedeutung beizumessen. Ich erinnere hier z. B. daran, dass man das Inulin als eine stärkmehlhaltige Substanz bezeichnet, obgleich es keine Blaufärbung mit Jod gibt. Ferner gebraucht man den Namen Dextrin für zwei aus dem Stärkmehl darstellbare Substanzen, von denen die eine durch Jod gefärbt wird, die andere nicht.

C. Ueber die Classification der in den Zellwandungen enthaltenen Kohlenhydrate.

Der von mir gemachte Vorschlag, unter den in Glucosen überführbaren Zellwandbestandtheilen Hemicellulosen und Cellulosen zu unterscheiden, gründet sich auf die un-

gleiche Widerstandsfähigkeit dieser Zellwandbestandtheile gegen heisse stark verdünnte Mineralsäuren. Doch lässt sich nicht behaupten, dass das von mir gewählte Eintheilungsprincip ein vollkommenes sei. Denn die Verschiedenheit, welche jene Substanzen beim Erhitzen mit verdünnten Mineralsäuren zeigen, ist nur eine graduelle; auch die Cellulosen werden durch diese Säuren langsam angegriffen. Es ist ferner zweifellos, dass die zu den Hemicellulosen gerechneten Stoffe nicht sämmtlich den gleichen Grad von Widerstandsfähigkeit gegen Säuren zeigen. Andererseits lässt sich zu Gunsten jenes Eintheilungsprincips anführen, dass die in Säuren leichter löslichen Zellwandbestandtheile (Hemicellulosen) auch gegen Oxydationsmittel eine weit geringere Widerstandsfähigkeit zeigen, als die Cellulosen, und dass sie, so weit darüber Versuche vorliegen, durch heisse verdünnte Alkalilauge in Lösung gebracht werden können, während letztere die Cellulosen, so viel man weiss, nicht angreift. Immerhin ist es aber von Interesse, die Frage aufzuwerfen, ob man nicht die Unterscheidung der Cellulosen und Hemicellulosen auf andere Merkmale gründen, oder überhaupt die Classification der in den Zellwandungen enthaltenen Kohlenhydrate in anderer Weise vornehmen kann.

Gilson will für diesen Zweck das Verhalten der genannten Substanzen gegen die Jodreagentien[1]) verwenden. Er erklärt in seiner schon öfter citirten Abhandlung, dass es nur einen mit Jod und Schwefelsäure oder Chlorzinkjod sich blau färbenden Zellwandbestandtheil gebe, nämlich die in Traubenzucker überführbare Cellulose. Er will daher alle anderen in den Zellwandungen enthaltenen Kohlenhydrate, von denen nach seiner Meinung keines die obige Reaction gibt, als Hemicellulosen bezeichnen.

Gilson sagt bei dieser Gelegenheit: «E. Schulze habe mit Unrecht angenommen, dass die Hemicellulosen durch Jod und Schwefelsäure oder Chlorzinkjod blau gefärbt werden». Dies veranlasst mich, über den Standpunkt, den ich bisher

---

[1]) Mit diesem Namen darf ich hier wohl der Kürze halber die zum Nachweis der Cellulose verwendeten Gemische von Jod mit Schwefelsäure und Chlorzink bezeichnen.

in dieser Frage eingenommen habe, Folgendes mitzutheilen: In der ersten Abhandlung über die chemische Zusammensetzung der pflanzlichen Zellmembranen[1]) habe ich in der zweiten Anmerkung auf Seite 269 Zweifel daran geäussert, dass die durch heisse verdünnte Mineralsäuren leicht in Lösung zu bringenden Zellwandbestandtheile, welche ich später als Hemicellulosen bezeichnet habe, sich mit Chlorzinkjod oder Jod und Schwefelsäure blau färben; zugleich habe ich aber geäussert, dass wir diese Frage unentschieden lassen mussten, weil wir jene Substanzen nicht unverändert von der neben ihnen sich vorfindenden Cellulose zu trennen vermochten. In der zweiten Abhandlung[2]) habe ich auf S. 411 auf Grund einiger dort mitgetheilter Beobachtungen, sowie mit Rücksicht auf die von Reiss[3]) über das Verhalten der Reservecellulose gegen die Jodreagentien gemachten Angaben geäussert: «es scheine, dass man diese Reagentien als Gruppenreagentien für Cellulosen und Hemicellulosen ansehen müsse». Dass ich aber die Frage nicht für eine mit Sicherheit zu beantwortende hielt, geht nicht nur aus der Fassung des obigen Satzes, sondern auch daraus hervor, dass ich in den Mittheilungen über unsere Untersuchungen in den Berichten der d. chem. Gesellschaft[4]), sowie in den Landwirthschaftlichen Jahrbüchern[5]) über das Verhalten der Hemicellulosen zu den Jodreagentien keine Angaben gemacht habe. Auch habe ich im Anschluss an den oben citirten Satz angegeben, dass die Producte, welche aus den mit heisser verdünnter Natronlauge aus hemicellulosehaltigen Zellfasern dargestellten Extracten durch Weingeist und Salzsäure gefällt wurden, sich mit den Jodreagentien nicht färbten[6]). Diesem letzteren Resultat konnte ich aber keine Bedeutung in dieser

---

[1]) Diese Zeitschrift, Bd. 15.

[2]) Ebendaselbst, Bd. 16.

[3]) Landwirthsch. Jahrbücher, Bd. 18, S. 747 762.

[4]) Bd. 24, S. 2277.

[5]) Bd. 21, S. 88.

[6]) In dem betreffenden Satze sind in Folge eines Druck- oder Schreibfehlers die Worte «dargestellten Extracten» ausgelassen, was ich hiermit berichtigen will.

Frage beimessen; denn jene Producte sind löslich in Wasser und demnach als Umwandlungsproducte der Hemicellulosen zu betrachten. Es musste aber als sehr wohl möglich angesehen werden, dass die Hemicellulosen in ihrer ursprünglichen Beschaffenheit sich mit Jod und Schwefelsäure oder Chlorzinkjod färben, während ihre Umwandlungsproducte ein anderes Verhalten zeigen.

Für die letztere Annahme scheint eine Beobachtung zu sprechen, welche wir an dem aus den entschälten Samen der blauen Lupine dargestellten Zellfaserpräparat machten. Wie früher von uns mitgetheilt worden ist, enthielt dieses Präparat neben etwas Proteïn und etwas Asche 80—85 % Hemicellulose und nur ungefähr 4 % Cellulose. Wie verhält sich nun dieses Präparat gegen die Jodreagentien? Sowohl nach unseren eigenen Beobachtungen als nach einem von Herrn Prof. C. Cramer auf meine Bitte ausgeführten Versuche färbt sich dasselbe mit Jod und Schwefelsäure sowie mit Chlorzinkjod lebhaft blau[1]). Allerdings ist die Färbung nicht so intensiv, wie diejenige, welche ein reines Cellulose-Präparat bei gleicher Behandlung annimmt. Letzteres kann aber auch nicht anders sein, denn das erstere Präparat quillt in Flüssigkeiten so stark auf, dass es sein Volumen um das Mehrfache vergrössert. Da dieses Präparat eine, wenn auch geringe Menge von Cellulose einschliesst, so sind die mit demselben vorgenommenen Versuche nicht völlig entscheidend in dieser Frage; aber es kann doch kaum für wahrscheinlich erklärt werden, dass jene geringe Cellulose-Menge eine so starke Blaufärbung bedingt, wie sie bei diesem Präparat eintritt; es scheint demnach auch die Hemicellulose durch die zur Anwendung gelangten Reagentien gefärbt zu werden.

---

[1]) Allerdings erscheinen einige Partikelchen des Präparats nach der Behandlung mit Chlorzinkjod oder Jod und Schwefelsäure unter dem Mikroskop missfarbig; dies erklärt sich aber daraus, dass das Präparat noch ungefähr 7 % Proteïnstoffe enthielt (vgl. oben). Dass der Proteïngehalt die Ursache jener Erscheinung war, geht daraus hervor, dass dieselbe bei einer zuvor mit kalter $2\frac{1}{2}$ proc. Natronlauge behandelten Probe des Präparats in viel geringerem Grade auftrat.

Im Hinblick auf die im Vorigen gemachten Darlegungen muss ich die Kritik, welche Gilson durch seine oben citirte Aeusserung an den von mir gemachten Angaben ausgeübt hat, für eine unberechtigte erklären.

In Widerspruch mit Gilson's Annahme, dass es nur einen durch die jodhaltigen Reagentien sich blaufärbenden Zellwandbestandtheil gebe, steht auch die von R. Reiss (loc. cit.) über das Verhalten der Reservecellulose gemachte Angabe. Der Genannte erklärt, dass dieselbe sich mit jenen Reagentien blau färbt.

Bei dieser Sachlage lässt sich aber nicht eine Classification der in den Zellwandungen enthaltenen Kohlenhydrate auf ihr Verhalten gegen die jodhaltigen Reagentien gründen.

Lassen sich nun in dem chemischen Verhalten der neben Dextroso-Cellulose in den Zellwandungen enthaltenen Kohlenhydrate andere gemeinsame Punkte auffinden, durch welche man diese Substanzen von der ersteren unterscheiden kann?

Wie aus den in meiner zweiten Abhandlung gemachten Mittheilungen zu ersehen ist, sind in den Zellwandungen von uns zwei Substanzen nachgewiesen worden, welche in der Widerstandsfähigkeit gegen lösende Agentien der Dextroso-Cellulosen sehr nahe stehen und demgemäss als celluloseähnliche Körper bezeichnet werden können. Die erste derselben ist die im zweiten Abschnitt dieser Abhandlung besprochene Mannoso-Cellulose, die zweite die in Xylose überführbare Substanz, welche sich z. B. in den aus den Schalen der Lupinensamen und der Erbsen dargestellten Cellulose-Präparaten in nicht unbeträchtlicher Menge vorfand[1]). Diese beiden Substanzen lassen sich durch heisse verdünnte Mineralsäuren nicht von der Dextroso-Cellulose trennen und widerstehen gleich der letzteren der Wirkung des F. Schulze'schen Reagens und des Hoffmeister'schen «Chlorgemisches». Wir haben nun untersucht, ob diese Substanzen auch den von Lifschütz (loc. cit.) zur Isolirung der Cellulose verwendeten Gemisch von

[1]) Vgl. diese Zeitschrift, Bd. 16, S. 430.

Schwefelsäure und Salpetersäure widerstehen und ob sie durch Erhitzen mit Aetzkali und wenig Wasser auf 180° zerstört werden. Die Resultate, welche wir bei diesen Versuchen für die Mannoso-Cellulose erhielten, sind schon im vorigen Abschnitt dieser Abhandlung mitgetheilt worden; aus den dort gemachten Angaben ist zu ersehen, dass die genannte Substanz weder durch das eine noch durch das andere jener Agentien zerstört wurde. Etwas anders verhielt sich der in Xylose überführbare Bestandtheil der Cellulose-Präparate, wie aus Versuchen sich ergab, welche wir mit dem bei Extraction fein gepulverter Erbsenschalen mit Aether, kalter verdünnter Natronlauge und heisser $1\frac{1}{4}$proc. Schwefelsäure verbliebenen Rückstand anstellten. Ein nach dem Verfahren von Lifschütz aus diesem Rückstand dargestelltes Cellulose-Präparat lieferte nach der Methode von de Chalmot und Tollens 7,51 % Furfurol[1]), also ungefähr ebenso viel, wie ein aus dem gleichen Material nach dem F. Schulze'schen Verfahren dargestelltes Präparat gegeben hatte[2]) — woraus zu schliessen ist, dass die in Xylose überführbare Substanz durch das Lifschütz'sche Säuregemisch nicht zerstört worden war. Eine weit geringere Furfurolmenge, nämlich nur 1,38 %[3]), lieferte dagegen ein aus dem gleichen Material nach der Methode von Hoppe-Seyler (einstündiges Erhitzen mit Aetzkali und wenig Wasser) dargestelltes Präparat; es war also in letzterem Falle zweifellos der grösste Theil der in Xylose überführbaren Substanz aufgelöst worden. Dass die Auflösung aber keine ganz vollständige gewesen war, lässt sich daraus schliessen, dass das in der beschriebenen Weise erhaltene Präparat beim Erhitzen mit Phloroglucin und Salzsäure sich noch violettroth färbte[4]).

---

[1]) Analytische Belege: 1,7520 gr. Trockensubstanz gaben 0,2069 gr. Hydrazon = 0,1317 gr. oder 7,51 % Furfurol.

[2]) Dieses Präparat lieferte 7,79 % Furfurol, vgl. diese Zeitschrift, Bd. 16, S. 433.

[3]) Analytische Belege: 1,9400 gr. Trockensubstanz gaben 0,0302 gr. Hydrazon = 0,0265 gr. oder 1,38 % Furfurol.

[4]) Vgl. über diese Reaction diese Zeitschrift, Bd. 16, S. 431.

Das gleiche Verhalten zeigte auch ein nach demselben Verfahren aus Buchenholz dargestelltes Präparat; es gab nach der Methode von de Chalmot und Tollens nur sehr wenig Furfurol, färbte sich aber beim Erhitzen mit Phloroglucin und Salzsäure noch schwach violett-roth.

Dass die in Xylose überführbare Substanz, auf welche diese Versuche sich beziehen, beim Erhitzen mit Aetzkali bis auf einen kleinen Rest aufgelöst werden konnte, war von vornherein insofern zu erwarten, als gerade diese Substanz der Einwirkung der Alkalien sehr zugänglich zu sein scheint[1]).

Auf Grund der oben mitgetheilten Versuchsergebnisse kann man im Verhalten gegen schmelzendes Kali eine Verschiedenheit des in Xylose überführbaren Bestandtheiles der oben genannten Cellulose-Präparate von der Dextroso-Cellulose erblicken, während dagegen die Mannoso-Cellulose sich in dieser Hinsicht von der Dextroso-Cellulose nicht zu unterscheiden scheint[2]). Dass aber die beiden im Vorigen genannten celluloseähnlichen Substanzen in der Widerstandsfähigkeit gegen lösende und zersetzende Agentien von den in den Samen der Lupinen sowie in der Roggen-, Weizen- und Maiskleie enthaltenen Hemicellulosen sehr stark abweichen, ist durch die oben beschriebenen Versuche aufs Neue bewiesen worden.

---

[1]) Aus den in dieser Zeitschrift, Bd. 16, S. 433, gemachten Mittheilungen ist zu ersehen, dass man die in Xylose überführbare Substanz, von welcher hier die Rede ist, aus den Cellulose-Präparaten durch kalte 5proc. Natronlauge nach und nach extrahiren kann. Im Hinblick darauf könnte man denken, dass es ganz überflüssig gewesen sei, jetzt noch zu prüfen, ob diese Substanz dem schmelzenden Aetzkali widersteht oder nicht. Die Sache liegt aber doch anders. Die früher von uns verwendeten Cellulose-Präparate waren mit Hilfe des F. Schulze'schen Reagens dargestellt. Durch die Behandlung mit diesem Reagens oder auch mit dem Hoffmeister'schen Chlorgemisch erhält nach den Untersuchungen von Koch und von Hoffmeister die Cellulose die Eigenschaft, durch kalte verdünnte Natronlauge angegriffen zu werden, während sie in unverändertem Zustande diesem Lösungsmittel widersteht.

[2]) Ob etwa die Mannoso-Cellulose in dem von uns ausgeführten Versuch partiell gelöst wurde und also durch langes Erhitzen mit Aetzkali zerstört werden kann, ist eine Frage, welche wir einer Prüfung nicht unterworfen haben.

Ueberblickt man alle über das Verhalten der kohlenhydratartigen Zellwandbestandtheile bis jetzt gemachten Beobachtungen, so kann man sich nicht verhehlen, dass es nicht leicht ist, diese Bestandtheile in zweckentsprechender Weise zu classificiren. Die Cellulosen, die Hemicellulosen, die schleimgebenden Zellwandbestandtheile und das Amyloid bilden eine Reihe chemisch verwandter Substanzen, deren Endglieder sich zwar in der Widerstandsfähigkeit gegen lösende Agentien, Oxydationsmittel u. s. w. sehr stark unterscheiden; dass es aber in der Reihe Substanzen gibt, welche als Uebergangsglieder zwischen den einzelnen Gruppen stehen, und demgemäss die Classification erschweren, darf schon auf Grund der bis jetzt gemachten Wahrnehmungen für fast zweifellos erklärt werden.

Man kann die hier vorhandenen Schwierigkeiten zum Theil umgehen, indem man sich entschliesst, den Namen Cellulose für die in Traubenzucker überführbare Substanz, welche ich im Vorigen als Dextroso-Cellulose bezeichnet habe, zu reserviren und alle übrigen kohlenhydratartigen Zellwandbestandsteile mit Ausnahme der schleimgebenden Stoffe und des Amyloids zu den Hemicellulosen zu rechnen. Allerdings würde man dann unter letzterem Namen Substanzen zusammenfassen, welche im Verhalten gegen verdünnte Säuren, Oxydationsmittel etc. stark differiren; doch wird es vielleicht später möglich sein, dieser Thatsache dadurch Rechnung zu tragen, dass man in der Gruppe der Hemicellulosen Unterabtheilungen macht.

Man kann noch fragen, wie sich die im Vorigen gegebene Classification der kohlenhydratartigen Zellwandbestandtheile zu derjenigen verhält, welche früher von Reiss aufgestellt worden ist. Darauf ist Folgendes zu antworten: Reiss hat die in Mannose (Seminose) überführbaren Zellwandbestandtheile als Reservecellulose bezeichnet, weil sie bei der Keimung der Samen gelöst und zur Ernährung des Keimlings verwendet werden. Der Begriff der «Reservecellulose» muss aber auf Grund unserer Untersuchungen erweitert werden. Denn es werden z. B. auch die in den Leguminosensamen enthaltenen

Hemicellulosen, welche bei der Hydrolyse Galactose geben, zweifellos während des Keimungsvorganges aufgelöst und für die Ernährung des Keimlings verwendet; auch haben wir nachgewiesen, dass manche Samen, in denen Reiss ein Mannan vorfand, neben letzterem auch ein Galactan enthalten, und es kann kaum bezweifelt werden, dass auch das letztere bei diesen Samen als Reservestoff fungirt. Man kann aber nicht behaupten, dass die Begriffe «Reservecellulose» und «Hemicellulose» sich decken. Denn es sind Hemicellulosen auch in Theilen des Samens vorhanden, deren Bestandtheile bei der Ernährung des Keimlings im Allgemeinen keine Verwendung finden, nämlich in den Samenschalen. Wenn demnach die Botaniker auch künftig gewisse Zellwandbestandtheile unter dem Namen «Reservecellulose» zusammenfassen, weil diese Zellwandbestandtheile bei der Keimung Verwendung finden, so kann doch die von mir gegebene Eintheilung der kohlenhydratartigen Zellwandbestandtheile daneben sehr wohl bestehen.

Schliesslich sei noch darauf aufmerksam gemacht, dass eine bessere Classification der kohlenhydratartigen Zellwandbestandtheile vielleicht möglich sein wird, wenn man erst über die chemische Beschaffenheit derselben vollständigeren Aufschluss gewonnen hat. Dass in letzterer Hinsicht unsere Arbeiten noch grosse Lücken gelassen haben, ist schon öfter von mir ausgesprochen worden. Es war der Hauptzweck dieser Arbeiten, die bei der Hydrolyse jener Zellwandbestandtheile entstehenden Glucosen kennen zu lernen. Wenn man nun auf Grund der dabei erhaltenen Resultate jene Zellwandbestandtheile als Anhydride der Dextrose, Galactose, Mannose, Arabinose und Xylose bezeichnet, so ist damit doch selbstverständlich die Frage nach der chemischen Natur derselben noch nicht vollständig beantwortet.

Auch dürfte es erforderlich sein, das mikrochemische Verhalten der Hemicellulosen noch eingehender zu untersuchen. Diese Untersuchung möchte ich den Botanikern überlassen.

Zur Kenntniss der Trehalose.

Von

E. Winterstein.

(Aus dem agricultur-chemischen Laboratorium des Polytechnikums in Zürich.)

(Der Redaction zugegangen am 17. Januar 1894.)

Die Trehalose oder Mykose, ein in wohlausgebildeten rhombischen Prismen krystallisirendes Kohlenhydrat, wurde bekanntlich von Berthelot[1]) in der Trehala[2]), dem Cocon eines Rüsselkäfers, später von Mitscherlich[3]) im Mutterkorn aufgefunden und untersucht. Schon Wiggers[4]) hatte vor der Entdeckung Berthelot's beobachtet, dass der weingeistige Extract des Mutterkorns Krystalle absetzt, welche in ihren Eigenschaften einem Kohlenhydrat glichen; Pelouze und Liebig[5]) aber erklärten dasselbe für Mannit. Müntz[6]) fand die Trehalose dann in einer Reihe anderer Pilze[7]), ihm verdankt man den sicheren Nachweis, dass Trehalose und Mykose identisch sind[8]).

Versuche zur Lösung der Frage nach den bei Inversion der Trehalose entstehenden Producten machte zuerst Ber-

---

1) Sur le tréhalose, nouvelle espèce de sucre. Compt. rend. 1858, 46, p. 1276. Annales de chim. et phys. 1859 (3), p. 273.

2) Notice sur une matière pharmaceutique nommée le Trehala Guibourt, Compt. rend. 1858, 46, p. 1213.

3) Annalen der Pharm., Bd. 106, S. 15; Journ. f. pr. Chem., Bd. 73, S. 15.

4) Annalen der Chem. u. Pharm., Bd. 1, S. 129.

5) Annalen der Chem. u. Pharm., Bd. 19, S. 285.

6) Compt. rend. 76, p. 648.

7) Müntz constatirte das Vorhandensein der Trehalose in folgenden Pilzen: Agaricus Eryngii, sulfureus, muscarius, columbetta, Lactarius viridis, Mucor Mucedo, Aethalium septicum.

8) Ann. chim. et phys. 1876, 8, p. 59.

thelot[1]). Derselbe erhielt nach fünfstündigem Kochen der Trehalose mit circa 5procentiger Schwefelsäure eine gährfähige, die Fehling'sche Lösung reducirende Flüssigkeit; bei kürzerer Kochdauer bekam er unter gleichen Versuchsbedingungen ein Product, welches schwächere Reduction, aber stärkeres Drehungsvermögen zeigte. Berthelot schloss daraus, dass die Trehalose bei längerem Kochen mit Säuren einen Zucker liefere, welcher dem Traubenzucker analog oder mit demselben identisch sei.

Mitscherlich[2]) erhielt bei Inversion der Trehalose mit Schwefelsäure einen in warzenförmigen Aggregaten krystallisirenden Zucker, welcher mit Hefe ebenso schnell gährte als Stärkezucker, daraus schliesst er, dass der Zucker des Mutterkorns durch Kochen mit Säuren in Stärkezucker umgewandelt wird.

G. Apping[3]) versuchte zur Kenntniss der Inversionsproducte der Trehalose auf folgendem Weg zu gelangen: Er kochte eine 10procentige Lösung der Trehalose mit 1procentiger Schwefelsäure verschieden lange Zeit, entfernte die Säure mit Baryumcarbonat und untersuchte die Flüssigkeiten im Polarisationsapparat; aus der stets abnehmenden Drehung auch bei länger fortgesetztem Kochen schloss er, dass die Trehalose nur sehr langsam invertirt wird. Einen Theil der bei obigen Versuchen erhaltenen Flüssigkeiten verdunstete er und übergoss den erhaltenen Syrup mit 80procentigem Alkohol, worauf sich nach einigen Tagen charakteristische Krystalle in den Formen der Trehalose ausschieden; die anderen bei längerem Kochen mit Säure erhaltenen Flüssigkeiten lieferten, auf die gleiche Weise behandelt, kurze prismatische zu Drusen vereinigte Krystalle. Auf Grund dieser Resultate spricht Verfasser aus, dass bei Behandlung der Trehalose mit Schwefelsäure neue Zuckerarten entstehen, deren Gemenge die Polarisationsebene mehr nach rechts dreht als Traubenzucker, dass eine dieser Glycosen weit leichter krystallisire als Traubenzucker und dass

---

[1]) Loc. cit.

[2]) Loc. cit.

[3]) Untersuchungen über die Trehalamanna, Inaugural-Dissertation, Dorpat 1885.

vielleicht eines der Spaltungsproducte der Trehalose auf alkalische Kupferlösung nicht einwirke.

Ausführlichere Versuche über die bei Inversion der Trehalose entstehenden Zuckerarten wurden dann von C. Böning[1]) im Laboratorium Dragendorffs angestellt. Derselbe erhitzte 30 gr. Trehalose mit 300 cbcm. 4procentiger Schwefelsäure 6 Stunden lang gelinde am Rückflusskühler; die vermittelst Baryumcarbonats von der Säure befreite Flüssigkeit kochte er mit Thierkohle, dampfte zum Syrup ein und extrahirte Letzteren mit 90procentigem Alkohol; aus dieser alkoholischen Lösung wurde durch Aether ein Product gefällt, welches durch Umkrystallisiren gereinigt wurde. Aus einer gesättigten 70procentigen weingeistigen Lösung dieser Producte konnte er auf Zusatz von absolutem Alkohol Krystalle zur Abscheidung bringen, welche in ihrer Krystallform mit der Trehalose übereinstimmten. Böning ermittelte nun die Löslichkeit seines erhaltenen Inversionsproductes in Wasser und Alkohol verschiedener Concentration, bestimmte seine specifische Drehung[2]), sowie den Wirkungswerth gegen Fehling'sche Lösung und gelangte auf Grund seiner Versuchsergebnisse zum Resultat, dass das erhaltene Inversionsproduct kein einheitlicher Körper sei und dass, wie auch Apping schon ausgesprochen, eines dieser Producte auf Fehling'sche Lösung nicht einwirkt.

Nachdem aus dem erhaltenen Inversionsproduct noch Acetylderivate und Verbindungen mit Basen dargestellt und untersucht worden waren, spricht Böning die Vermuthung aus, dass möglicherweise eines der Producte unveränderte Trehalose sein könne; es gelang ihm aber nicht, durch Fällen mit Bleiessig oder Umkrystallisiren aus Alkohol eine Trennung der Producte zu bewerkstelligen. Erst nach einem Jahre machte er die zufällige Beobachtung, dass sich aus den vereinigten alkoholischen Mutterlaugen Krystalle abgesetzt hatten. Dieselben zeigten bei der Untersuchung im Polarisationsapparat ein

---

[1]) Untersuchungen des Inversionsproductes der aus Trehala manna stammenden Trehalose, Inaugural-Dissertation. Dorpat 1888.

[2]) Die erhaltenen Producte zeigten ein Drehungsvermögen von $+69{,}2^{\circ}$ bis zu einem Maximum von $+76{,}9^{\circ}$.

Drehungsvermögen von + 53°, sie reducirten Fehling'sche Lösung beinah ebenso stark, wie Traubenzuckar und schmolzen bei 145,5° C. Aus diesen Resultaten folgert Böning, dass die Trehalose bei der Inversion Dextrose liefere und dass das von der Dextrose abweichende Verhalten des beim Kochen mit Säuren entstandenen Productes sich auf rückständige, unveränderte Trehalose zurückführen lässt.

Einen weiteren Beitrag zur Lösung der Frage über die Inversionsproducte der Trehalose machte Maquenne[1]), derselbe bestimmte die Menge des aus dem Inversionsproducte der Trehalose beim Erhitzen mit essigsaurem Phenylhydrazin gebildeten Osazons und verglich die Quantität an letzterer mit derjenigen aus reinem Traubenzucker entstehenden Osazonmenge; die Uebereinstimmung der in beiden Fällen erhaltenen Ausbeuten veranlasste ihn zur Schlussfolgerung, dass die Trehalose bei der Inversion lediglich Glucose — worunter hier wahrscheinlich Traubenzucker gemeint ist — liefere.

Es liegt über diesen Gegenstand auch eine Aeusserung Dragendorff's[2]) vor; derselbe erklärte, dass bei der Inversion der Trehalose eine der Dextrose nahestehende Zuckerart entstehe, welche sich aber von der letzteren durch ihr Krystallisationsvermögen und dadurch unterscheide, dass ihre Hydrazinverbindung einen abweichenden Schmelzpunkt zeigt[2]). Man darf wohl annehmen, dass diese Aeusserung Dragendorff's sich auf die Ergebnisse stützt, welche Böning anfangs bei seinen Untersuchungen erhalten hat.

Trotzdem nun durch die mitgetheilten Untersuchungen bewiesen ist, dass bei Inversion der Trehalose Traubenzucker entsteht, so ist doch die Frage, ob die letztere Zuckerart das einzige Inversionsproduct der Trehalose ist, noch nicht entschieden worden. Die Schlussfolgerung Maquenne's kann nur unter der Voraussetzung gelten, dass nicht neben der Dextrose eine bisher unbekannte ähnliche Zuckerart entsteht, als einwurfsfrei bezeichnet werden.

---

[1]) Compt. rend. 112, p. 947.

[2]) 60. Naturf.-Versammlung Wiesbaden, Sect. f. Pharm., Pharmaceutische Zeitung 32, S. 542.

Da ich bei Verarbeitung von Steinpilzen (Boletus edulis) in Besitz einer grösseren Quantität reiner Trehalose gelangte, so habe ich mich veranlasst gesehen, obige Frage einer experimentellen Prüfung zu unterziehen. Ich habe den Besitz eines reinen Trehalosepräparates aber auch benutzt, um die über die Eigenschaften dieses Kohlenhydrats in der Litteratur sich findenden Angaben zu controliren.

Im Folgenden mache ich zunächst Mittheilung über die Darstellung der Trehalose. Einige Kilogramm lufttrockener Pilze wurden zunächst, um sie recht fein pulverisiren zu können, 12 Stunden scharf getrocknet, darnach auf einer Mühle fein gemahlen. Das Pulver wurde nun mit Aether in der Kälte wiederholt extrahirt und schliesslich in einem Torner'schen Fettextractionsapparat in der Wärme noch möglichst vollständig entfettet; das so entfettete Pulver wurde nun in einem grossen Kupferkessel längere Zeit am Rückflusskühler mit circa 90 proc. Alkohol ausgekocht und der gewonnene braune alkoholische Extract noch warm vom Ungelösten abfiltrirt; das Filtrat wurde sodann von dem ziemlich compacten, amorphen Bodensatz, welcher sich nach mehrstündigem Stehen gebildet, abgegossen und die klare dichroitische Flüssigkeit an einem kalten Ort stehen gelassen. Der nach der ersten Extraction verbliebene Rückstand wurde nun noch einige Male auf beschriebene Weise mit Alkohol behandelt und zuletzt noch mit 80 proc. Alkohol ausgekocht. Aus den ersten vermittelst 90 proc. Alkohols gewonnenen Extracten schieden sich nach mehrtägigem Stehen an einem kalten Orte an den Wandungen der Gefässe grosse, deutlich ausgebildete, glänzende Krystalle aus; auch die letzten Auszüge setzten noch kleine Mengen derselben ab. Als die Quantität dieser Krystalle nicht mehr zunahm, wurde der Alkohol abgegossen, die von den Wandungen abgelösten Krystalle mit kaltem 95 proc. Alkohol und einige Male mit Aether abgewaschen, darauf in Wasser gelöst und diese Lösung mit etwas Bleiessig und Tannin versetzt[1]); ich filtrirte vom

[1]) Diese Behandlung ist nothwendig, um eine Verunreinigung zu entfernen, die in geringer Menge vorhanden war, aber doch die wässerige Lösung unfiltrirbar machte. In einigen Fällen bedurfte es wiederholten Ausfällens mit Bleiessig, um diese Beimengung zu entfernen.

Ausgeschiedenen ab und entfernte im Filtrat das überschüssige Blei durch Schwefelwasserstoff; die vom Bleisulfid getrennte Flüssigkeit dampfte ich zum Syrup ein und extrahirte letzteren in der Wärme mit 90—95 proc. Alkohol; die aus den alkoholischen Extracten gewonnenen Krystalle wurden wiederholt aus Wasser und zuletzt aus kochendem 95 proc. Alkohol umkrystallisirt. Die so gewonnenen Präparate besassen folgende Eigenschaften: es waren schöne farblose, glasglänzende, deutlich ausgebildete Krystalle des rhombischen Systems im Wasser ziemlich leicht, in warmem hochprocentigen Alkohol schwer, in kaltem beinahe unlöslich; in der Capillare erhitzt, schmolzen sie bei 101°, die wässerige Lösung dieser Krystalle reducirte Fehling'sche Lösung nicht, diese Lösung ist stark rechtsdrehend. Eine wässerige Lösung, welche in 10 cbcm. 1 gr. enthielt, drehte im Soleil-Ventzke'schen Polarisationsapparat in 200 mm-Rohr bei Zimmertemperatur 102,5 S.-V. nach rechts; daraus berechnet sich eine specifische Drehung von $[\alpha]_D = + 177{,}32°$[1]). Eine wässerige Lösung, welche in 10 cbcm. 0,9 gr. enthielt, drehte im 200 mm.-Rohr bei Zimmertemperatur 92,1° S.-V. nach rechts; daraus berechnet sich $[\alpha]_D = + 177{,}03°$. Eine wässerige Lösung, welche in 10 cbcm. 0,8 gr. enthielt, drehte bei Zimmertemperatur im 200 mm.-Rohr 82,5° S.-V. nach rechts; daraus berechnet sich $(\alpha]_D = + 174{,}66°$. Aus diesen 3 Zahlen ergibt sich im Mittel das specifische Drehungsvermögen der krystallwasserhaltigen Trehalose für $[\alpha]_D = 176{,}33°$. In verdünnterer Lösung ist das Drehungsvermögen geringer.

Die Krystalle konnten ohne Zersetzung längere Zeit über 130° erhitzt werden, wobei sie 9 % Wasser, beim Erhitzen auf etwa 150° noch 0,42 % Wasser[2]) abgaben. Bei längerem Erhitzen mit Invertin auf 40° wurde die wässerige Lösung meiner Präparate invertirt.

[1]) Nach Berthelot (l. c.) beträgt das specifische Drehungsvermögen der Trehalose für $[a]_j + 208°$, nach Mitscherlich $[\alpha]_D = + 173{,}3°$ (Tollens Handbuch der Kohlenhydrate, S. 154.) Apping l. c. S. 34 fand $[\alpha]_D = + 180{,}6°$. Diese Zahlen beziehen sich auf krystallwasserhaltige Substanz.

[2]) Die Theorie verlangt 9,52 % H_2O.

Aus den im Vorigen mitgetheilten Versuchsergebnissen kann mit aller Sicherheit geschlossen werden, dass das von mir erhaltene Kohlenhydrat Trehalose war. Die Auffindung von Trehalose in getrockneten Pilzen konnte insofern überraschen, als Bourquelot[1]) angibt, dass er das genannte Kohlenhydrat nur in frischen Pilzen gefunden habe; getrocknete Pilze lieferten ihm keine Trehalose mehr, er nimmt an, dass dieselben während des Trocknens durch einen Vorgang, welcher demjenigen des Reifens ähnlich sei, in Mannit umgewandelt werde. Worin diese Verschiedenheit der von Bourquelot und mir erhaltenen Resultate bedingt ist, vermag ich nicht zu entscheiden.

Nachdem ich auf angegebene Weise eine grosse Quantität sehr reiner Trehalose dargestellt hatte, suchte ich zunächst festzustellen, unter welchen Bedingungen eine vollständige Inversion dieses Kohlenhydrats zu erreichen und zugleich die grösste Ausbeute an Glucose zu erzielen ist. Zu diesem Zwecke stellte ich folgende Versuche an: Abgewogene Menge Substanz wurde eine bekannter Zeit mit einem bekannten Volumen verdünnter Säure bestimmter Concentration gekocht, die Flüssigkeit darauf neutralisirt und in einem aliquoten Theil derselben die gebildete Glucose nach der Allihn'schen Methode bestimmt und als Dextrose berechnet.

1 gr. Substanz wurde mit 100 cbcm. $^1/_5$ normaler Salzsäure genau eine Stunde gekocht. 20 cbcm. dieser Lösung gaben im Mittel aus zwei Bestimmungen folgende Resultate:

Nach								
Nach	1stündigem	Kochen	0,0984 gr. Cu	= 0,0501 gr.	Dextrose	oder	25,05 %	.
»	2 »	»	0,1735 »	» = 0,08875 »	»	»	44,37	»
»	3 »	»	0,2390 »	» = 0,1234 »	»	»	61,70	»
»	4 »	»	0,2886 »	» = 0,1503 »	»	»	75,15	»
»	5 »	»	0,299 »	» = 0,1560 »	»	»	78,0	»
»	6 »	»	0,3180 »	» = 0,1664 »	»	»	83,20	»
»	7 »	»	0,3446 »	» = 0,1813 »	»	»	90,65	»

---

[1]) Comp. rend. 111, p. 534. Chem. Centralblatt 1890, II, 882. Aus getrocknetem Cantharellus cibarius (Pfifferling) habe ich keine Trehalose abscheiden können.

Beim Kochen mit 100 cbcm. normaler Salzsäure erhielt ich, unter Anwendung gleicher Quantitäten von Zucker und Flüssigkeit wie oben, folgende Zahlen:

Nach 1stündigem Kochen 0,3510 gr. Cu = 0,1849 gr. Dextrose oder 92,45 $^0/_0$.
» 2 » » 0,3540 » » = 0,1860 » » » 93,30 »

Da man die Inversion am zweckmässigsten mit Schwefelsäure ausführt, so habe ich gleiche Versuche mit derselben angestellt. Die Resultate ergeben sich aus folgender Tabelle. 1 gr. Substanz wurden mit 50 cbcm. $^1/_2$-normaler Schwefelsäure gekocht, 10 cbcm. gaben:

Nach 2stündigem Kochen 0,2250 gr. Cu = 0,1159 gr. Dextrose oder 57,95 $^0/_0$.
» 5 » » 0,3442 » » = 0,1810 » » » 90,50 »

Beim Kochen mit 100 cbcm. 4procentiger Schwefelsäure gab 1 gr. Substanz folgende Resultate:

Nach 3stündigem Kochen 0,3185 gr. Cu = 0,1667 gr. Dextrose oder 83,35 $^0/_0$.
» 5 » » 0,3580 » » = 0,1889 » » » 94,45 »

Nach fünfstündigem Kochen mit normaler Schwefelsäure erhielt ich ebenfalls 94,45 $^0/_0$ und nach siebenstündigem Kochen mit Säure angegebener Concentration hatte sich die Quantität der gebildeten Glucose vermindert: ich erhielt nur noch 91,85 $^0/_0$ Dextrose.

Die gewonnenen Resultate zeigen also, dass die Inversion der Trehalose nur sehr allmälig verläuft, eine Thatsache, die bereits von C. Apping[1]) und G. Böning[2]) beobachet, wenn auch nicht quantitativ verfolgt worden ist. Es ist mir aber nicht gelungen, die theoretische Ausbeute[3]) an Zucker ganz vollständig zu erhalten, was wohl auf eine partielle Zerstörung der gebildeten Glucose oder auf eine Reversion zurückzuführen ist.

Nach diesen Versuchsergebnissen erschien es angezeigt, behufs vollständiger Inversion die Trehalose 5 Stunden mit normaler Schwefelsäure zu kochen; ich habe es aber, da die Abnahme der Glucosequantität bei siebenstündigem Kochen nur eine unbedeutende war, angemessen gefunden, 6 Stunden zu kochen und verfuhr demgemäss wie folgt: Ich erhitzte 70 gr. reinster Trehalose mit 2 Liter 5procentiger Schwefel-

---

[1]) Loc. cit.
[2]) Loc. cit.
[3]) Die theoretische Ausbeute beträgt 95,24 $^0/_0$.

säure 6 Stunden am Rückflusskühler, nach Beendigung des Kochens wurde die Flüssigkeit mit Barythydrat nahezu neutralisirt; das schwach saure Filtrat vom $BaSO_4$ concentrirte ich bei gelinder Wärme, entfernte die noch vorhandene Säure mit Baryumcarbonat und verdunstete die Flüssigkeit zur Syrupconsistenz. Ich erhielt auf diese Weise einen hellgelben Syrup, aus welchem sich nach Verlauf von 24 Stunden warzenförmige Krystalle ausschieden, nach einer Woche hatte sich der Syrup in eine feste Krystallmasse verwandelt, welche ganz das Aussehen von Traubenzucker besass. Die Quantität dieser Krystalle betrug circa 65 gr. Es war nun festzustellen, ob dieses Inversionsproduct neben Dextrose noch eine andere Glucose einschloss. Zur Entscheidung dieser Frage suchte ich auf folgendem Weg zu gelangen: Die fein zerriebene Krystallmasse wurde in einem Erlenmeyerkolben mit circa 200 cbcm. 95procentigem Alkohol übergossen und eine kurze Zeit am Rückflusskühler gekocht; der so gewonnene alkoholische Auszug wurde, nachdem der entstandene ungelöste Syrup sich abgesetzt hatte, abgegossen und in einer flachen Schule zur Verdunstung über Schwefelsäure gebracht; den zurückgebliebenen Syrup kochte ich dann mit einer grösseren Quantität 95procentigem Alkohol längere Zeit, hierbei ging der grösste Theil in Lösung; den ungelösten Rest zog ich noch zwei Mal mit kleineren Quantitäten Alkohols aus und stellte auf diese Weise 4 weingeistige Lösungen dar; nach dieser wiederholten Extraction hinterblieb noch eine kleine Menge eines braunen Rückstandes, welcher nach einigen Wochen krystallinisch erstarrt war. Alle die 4 Extracte lieferten beim Verdunsten über Schwefelsäure Krystalle. Die Quantitäten der erhaltenen Krystalle differirten stark, da ich beim Auskochen nicht gleichviel Weingeist zur Anwendung brachte; die erste Fraction gab ungefähr 10, die zweite 34, die dritte 8 und die vierte 10 gr.

Ich untersuchte nun zunächst die 4 einzelnen Fractionen ohne sie von den Mutterlaugen abzupressen und ohne dieselben noch einmal umzukrystallisiren, da ja möglicherweise eines der entstandenen Producte dadurch hatte entfernt werden können.

Bei der Untersuchung der einzelnen Fractionen erhielt ich nun folgende Resultate:

I. Fraction.

Eine wässerige Lösung, welche in 10 cbcm. 1,025 gr. enthielt, drehte nach 24 Stunden im 100 mm.-Rohr bei Zimmertemperatur + 13,8° S.-V. nach rechts, daraus berechnet sich $[\alpha]_D = + 46{,}6^0$.

Das in bekannter Weise dargestellte Osazon schmolz bei 201°. 2 gr. wurden nach den von Gans und Tollens gegebenen Verfahren mit Salpetersäure vom spec. Gewicht 1,15 oxydirt, das erhaltene Product in das Kaliumsalz übergeführt und aus Letzterem das Silbersalz dargestellt. Bei der Silberbestimmung im Letzteren erhielt ich nachstehende Zahlen: 0,1416 gr. zuckersaures Silber gaben 0,0714 gr. Ag = 50,43°[1]).

Ferner prüfte ich noch das Verhalten gegen Hefe und zwar nach der von Stone und Tollens gegebenen Vorschrift[2]). 0,2 gr. Zucker gaben 14,5 cbcm. Gas, während aus der gleichen Menge Trauben-Zucker 15 cbcm. erhalten wurden.

II. Fraction.

Eine wässerige Lösung, welche in 10 cbcm. 0,860 gr. enthielt, drehte nach 24 Stunden bei Zimmertemperatur im 200 mm.-Rohr 26,2° S.-V. nach rechts, daraus berechnet sich $[\alpha]_D = 52{,}7^0$. Das Osazon schmolz bei 202°. Die Silberbestimmung im zuckersauren Silber ergab Folgendes: 0,3607 gr. Substanz gaben 0,1838 gr. = 50,94 %. Bei der Gährung mit Hefe gaben 0,1 gr. Zucker 14 cbcm. Gas, reiner Traubenzucker lieferte 15 cbcm.

III. Fraction.

Eine wässerige Lösung, welche in 10 cbcm. 0,9798 gr. enthielt. drehte nach 24 Stunden im Rohr 30,5° S.-V. nach rechts, daraus berechnet sich $[\alpha]_D = + 53{,}^0$. Das Osazon schmolz bei 201°. Die Silberbestimmung im zuckersauren Silber ergab folgende Zahlen: 0,281 gr. Substanz gaben 0,1430 gr. Ag = 50,88 %. Bei der Gährung mit Hefe erhielt ich 13 cbcm. Gas, während die gleiche Menge reiner Traubenzucker unter gleichen Versuchsbedingungen 15 cbcm. lieferte.

IV. Fraction.

Eine wässerige Lösung, welche in 16 cbcm. 1,0672 gr. enthielt, drehte nach 24 Stunden bei Zimmertemperatur im 200 mm.-Rohr 26,4° S.-V. nach rechts, daraus berechnet sich ein specifisches Drehungsvermögen von $[\alpha]_D = + 44{,}9^0$. Das, wie oben beschrieben, dargestellte Osazon schmolz bei + 200°. Bei der Silberbestimmung im zuckersauren Silber erhielt ich folgende Zahlen: 0,4460 gr. gaben 0,2236 gr. Ag

[1]) Die Theorie verlangt 50,94° Ag.

[2]) Ann. d. Chem. u. Pharm. 249, S. 259.

= 50,14 %. Bei der Gährung mit Hefe lieferten mir 0,1 gr. Zucker 12 cbcm. Gas, ein paralleler Versuch mit reinem Traubenzucker gab 15 cbcm. Gas.

Es ist hier zunächst darauf aufmerksam zu machen, dass Krystallisation II, deren Quantität mehr als die Hälfte der ganzen Krystallmasse betrug, ein Drehungsvermögen zeigte, welches mit demjenigen des Traubenzuckers genau übereinstimmt[1]). Die Fraction III zeigte ein etwas höheres, die Fractionen I und IV ein etwas geringeres Drehungsvermögen; doch sind die Differenzen nicht so gross, dass sie nicht auf das Vorhandensein geringer Mengen von Nebenproducten zurückgeführt werden könnten.

Die im Vorigen mitgetheilten Versuchsergebnisse sprechen schon dafür, dass Traubenzucker das einzige Inversionsproduct der Trehalose ist.

Ich krystallisirte nun die erste und zweite Fraction der in obigen Versuchen erhaltenen Krystalle aus Weingeist um, wobei ich sie wieder in mehrere Krystallisationen zerlegte, die durch Abpressen von der Mutterlauge getrennten und sorgfältig getrockneten Präparate gaben bei der Untersuchung im Polarisationsapparat folgende Resultate:

Eine wässerige Lösung des ersten Präparats aus der oben erwähnten ersten Fraction, welche in 10 cbcm. 0,4400 gr. enthielt, drehte nach 24 Stunden bei Zimmertemperatur im 200 mm.-Rohr 12,9° S.-V. nach rechts, daraus berechnet sich $[\alpha]_D = +50,72°$.

Eine wässerige Lösung des zweiten Präparats, welche in 10 cbcm. 0,9067 gr. enthielt, drehte nach 24 Stunden bei Zimmertemperatur im 200 mm.-Rohr 26° S.-V. nach rechts. Daraus berechnet sich $[\alpha]_D = +49,60°$.

Eine wässerige Lösung des ersten Präparats (aus der oben erwähnten zweiten Fraction), welche in 10 cbcm. 1,1003 gr. enthielt, drehte bei Zimmertemperatur im 200 mm.-Rohr + 33,1° S.-V. nach rechts. Daraus berechnet sich $[\alpha]_D = +52,05°$.

Eine wässerige Lösung des zweiten Präparats, welche in 10 cbcm. 0,7039 gr. enthielt, drehte bei Zimmertemperatur im 200 mm.-Rohr + 20,4° S.-V. nach rechts. Daraus berechnet sich $[\alpha]_D = +50,19°$.

---

[1]) Die Zahlen beziehen sich auf wasserfreie Substanz. Das anfängliche Drehungsvermögen war grösser, es war also Birotation vorhanden.

Die Zahlen liegen den für das Drehungsvermögen des Traubenzuckers angegebenen sehr nahe. Das specifische Drehungsvermögen reiner Dextrose beträgt in 10proc. wässeriger Lösung + 52,74°, in verdünnterer Lösung etwas weniger. Bekanntlich erhält man ganz reine Dextrose nur durch wiederholtes Umkrystallisiren aus Aethyl- bezw. Methylalkohol. Es ist noch besonders hervorzuheben, dass keines der Präparate ein Drehungsvermögen zeigte, welches höher als dasjenige des Traubenzuckers ist[1]).

Ich bestimmte nun bei Fraction II (vergl. oben) die Ausbeute an zuckersaurem Silber; ich erhielt hierbei aus 5 gr. Substanz 1,2 gr. des genannten Salzes; bei ganz gleichen Versuchsbedingungen lieferten mir 5 gr. reiner Traubenzucker im Mittel 1,1 gr. Ein Befund, welcher im Verein mit den oben angeführten Versuchsergebnissen beweist, dass die Fraction II, deren Quantität mehr als die Hälfte ausmachte, aus Traubenzucker bestand.

Dass Fraction I, deren Drehungsvermögen anfänglich nur = + 46°/₀ gefunden war, der Hauptsache nach auch aus Traubenzucker bestand, geht aus dem Umstande hervor, dass bei dem Umkrystallisiren Präparate erhalten wurden, deren specifisches Drehungsvermögen mit dem für Traubenzucker angegebenen Zahlen beinahe übereinstimmt. Dass Product III und IV, welche nur einen kleinen Theil des bei Inversion gewonnenen Productes ausmachten, im Wesentlichen aus Traubenzucker bestand, beweist die Gährfähigkeit derselben mit Hefe, die Bildung von Zuckersäure bei der Oxydation und der Schmelzpunkt der daraus erhaltenen Osazone. Dass in denselben neben Traubenzucker geringe Mengen von Reversions- oder Zersetzungsproducten sich vorfanden, kann als wahrscheinlich angenommen werden; dafür spricht auch die gelbe Farbe der wässerigen Lösungen dieser Krystallfractionen.

Ich habe nun endlich noch folgenden Versuch angestellt: 5 gr. reiner Trehalose wurden mit 200 cbcm. 5proc. Schwefelsäure 6 Stunden am Rückflusskühler gekocht, die vermittelst Barythydrats von der Schwefelsäure befreite Flüssigkeit dunstete ich vorsichtig zum Syrup ein und oxydirte denselben nach

den von Gans und Tollens[1]) gegebenen Vorschriften mit Salpetersäure vom specif. Gew. 1,15, aus dem Oxydationsproducte wurde das Kaliumsalz dargestellt und das Letztere in das Silbersalz übergeführt. Ich erhielt auf diese Weise aus 5 gr. Trehalose 1,1 gr. zuckersaures Silber, also ungefähr diejenige Quantität, welche entstehen musste unter der Annahme, dass Traubenzucker das einzige Inversionsproduct der Trehalose ist.

Hält man alle die mitgetheilten Thatsachen zusammen, so kann man nicht daran zweifeln, dass aus der Trehalose bei der Inversion keine andere Glucose als Traubenzucker entsteht. Im völligen Einklang damit stehen noch folgende Versuchsergebnisse: 5 gr. Trehalose wurden mit 60 cbcm. Salpetersäure vom sp. Gew. 1,15 bei gelinder Wärme zum Syrup eingedampft, derselbe nach dem Erkalten mit Wasser versetzt und stehen gelassen; es hatten sich nach mehreren Tagen keine Krystalle von Schleimsäure ausgeschieden; dieser Befund beweist die Abwesenheit von Galactose. Bei der Destillation von 1 gr. Trehalose mit 100 cbcm. 10proc. Salzsäure entstand kein Furfurol, woraus hervorgeht, dass die Trehalose keine Pentosen enthält. Die wässerigen Lösungen der erhaltenen 4 Fractionen (vergl. o.) gaben mit essigsaurem Phenylhydrazin in der Kälte keine Fällung; dieses Ergebniss endlich beweist die Abwesenheit von Mannose in dem aus Trehalose entstandenen Inversionsproduct. Ich erhielt also bei Prüfung auf Galactose, Mannose und Pentosen völlig negative Resultate.

Wenn nun andere Versuchsansteller[2]) bei Inversion der Trehalose Producte erhielten, welche stärker als Traubenzucker drehten, so ist dies darauf zurückzuführen, dass diesen Producten noch unveränderte Trehalose beigemengt war, wie auch schon von Böning[3]) vermuthet worden ist. Auch ich erhielt bei 5stündigem Kochen mit nur 3proc. Schwefelsäure Krystalle, deren specifisches Drehungsvermögen für $[\alpha]_D = 58,88^0$ war, wie aus nachstehenden Zahlen zu ersehen ist. Eine wässerige

[1]) Annalen 249, S. 218.

[2]) Vergleiche G Apping loc. cit. und C. Böning loc. cit.

[3]) Loc. cit.

Lösung, welche in 10 cbcm. 0,355 gr. enthielt, drehte nach 24 Stunden bei Zimmertemperatur im 200 mm-Rohr + 12,1° S.-V. nach rechts. Selbst nach mehrfachem Umkrystallisiren aus 95proc. Weingeist zeigte dasselbe noch ein specifisches Drehungsvermögen von $[\alpha]_D = +55°$, wie aus nachstehenden Zahlen ersichtlich ist. Eine wässerige Lösung, welche in 10 cbcm. 1,0845 gr. enthielt, drehte bei Zimmertemperatur im 200 mm.-Rohr 34,5° S.-V. nach rechts.

Ich habe auch noch das Moleculargewicht der Trehalose nach der Gefriermethode vermittelst des Beckmann'schen Apparates bestimmt und Werthe erhalten, welche innerhalb der Fehlergrenzen auf die Formel $C_{12}H_{22}O_{11}$ stimmen, wie aus nachstehenden Daten zu ersehen ist.

I. Eine wässerige Lösung, welche in 20 gr. 0,9866 gr. Substanz enthielt, gab eine Temperaturerniedrigung von 0,29°. Daraus berechnet sich das Moleculargewicht zu 322.

II. Eine wässerige Lösung, welche in 20 gr. 1,2830 gr. Substanz enthielt, gab eine Temperaturerniedrigung von 0.37°. Daraus berechnet sich das Moleculargewicht zu 326.

III. Eine wässerige Lösung, welche in 20 gr. 1,6725 gr. Substanz enthielt gab eine Temperaturerniedrigung von 0,47°. Daraus berechnet sich das Moleculargewicht zu 336.

Maquenne erhielt bei der Moleculargewichtsbestimmung der Trehalose im Mittel 350.

Die Trehalose gleicht demnach in einigen Punkten der Maltose: sie hat dasselbe Moleculargewicht und gibt bei der Inversion ebenfalls nur Traubenzucker. Sie unterscheidet sich von der Maltose dadurch, dass sie die Fehling'sche Lösung nicht direct reducirt und beim Erhitzen mit essigsaurem Phenylhydrazin kein Osazon liefert[1]). Diese Verschiedenheit im Verhalten muss auf eine Verschiedenheit der Constitution zurückgeführt werden und es ist wohl sehr wahrscheinlich, dass bei der Bildung der Trehalose aus zwei Dextrose-Molecülen die beiden Aldehydgruppen durch Anhydridbildung verändert sind, während in der Maltose eine Aldehydgruppe erhalten ist.

---

[1]) E. Fischer, Ber. d. deutsch. chem. Gesellschaft, Bd. 17, S. 583.

Ueber die Bestimmung der Alkalinität und Acidität des Urins.

Von

Dr. E. Freund und **Dr. G. Toepfer.**

(Aus dem pathologisch-chemischen Laboratorium der k. k. Krankenanstalt „Rudolfstiftung“ in Wien.)

(Der Redaction zugegangen am 19. December 1893.)

Die Bestimmung der Acidität des Urins wird derzeit so ausgeführt, dass man zu dem mit dem säureempfindlichen Farbindicator versetztem Urin Natronlauge so lange zufliessen lässt, bis die ursprüngliche saure Reaction in eine neutrale übergegangen ist, und die hierfür verwendetete Natronlauge als Maassstab des Alkalibindungsvermögens — der Acidität — dieses Urins, auffasst. Diese Methode führt aber niemals zu genauen Resultaten, weil es sich im Harn hauptsächlich um Säuren handelt, die nur theoretisch neutral, in Praxis aber auf die in Verwendung stehenden Indicatoren alkalisch reagirende Salze bilden. Die Neutralität wird uns daher angezeigt, bevor noch die vorhandenen Säuren ganz gesättigt sind.

Dieser Umstand mag die Ursache dafür sein, dass die vorliegenden Arbeiten über die Aciditätsverhältnisse der pathologischen Urine gar nicht in Relation stehen zu der Wichtigkeit derselben für die Beurtheilung pathologischer Verhältnisse.

Die Oxydationsvorgänge im menschlichen Organismus machen bekanntlich aus dem Schwefel und Phosphor der Eiweisskörper des Nucleins, des Lecithins etc., Schwefelsäure, Phosphorsäure, aus Kohlehydraten und Fetten bei unvollkommener Oxydation eine Reihe fetter Säuren, von deren Mengenverhältniss die Acidität des Urins selbstverständlich abhängt.

Die Acidität des Urins wird daher für uns nicht nur einen Maassstab der Oxydationsfähigkeit des Organismus über-

haupt abgeben, sondern auch im Zusammenhalt mit der ausgeschiedenen Stickstoffmenge uns einen Einblick in den Grad dieser Oxydation gewähren.

Mit Rücksicht darauf war es unser Bestreben, durch eine sichere Methode die Aciditäts- und Alkalinitätsverhältnisse des Urins besimmen zu können. Wir sagen mit Absicht Aciditäts- und Alkalinitätsbestimmung, weil es sich im Urin fast niemals um Körper handelt, denen lediglich nur saure Eigenschaften zukommen, sondern fast stets neben solchen Körpern auch solche Verbindungen vorkommen, die die Eigenschaften eines Alkali besitzen. Wir beziehen uns hier nicht auf jene seltenen Fälle, wo der Urin amphotere Reaction zeigt, also ein rothes Lacmuspapier blau und blaues roth färbt. Die amphotere Reaction ist ja nur ein Ausdruck eines gewissen Verhältnisses einer Mischung von Mononatriumphosphat und Dinatriumphosphat. Im Urin haben wir aber, ohne dass es zu dieser Art Reaction kommt, stets Mononatriumphosphat neben Dinatriumphosphat vorhanden.

Wir können nebst diesen Salzen auch Salze organischer Säuren im Urin finden, die sowohl als saure, wie als alkalisch reagirende vorkommen. Nachdem solche Körper im Urin nebeneinander vorkommen, ohne sich gegenseitig abzustumpfen, erscheint es auch gerechtfertigt, diese einzelnen Factoren getrennt zu bestimmen. Als principielle Forderung für eine derartige Methode erschien es uns nothwendig (wir beschränkten uns auf titrimetrische Bestimmungen), Farbstoffe zu wählen, welche gemäss den zwei- und dreibasischen Salzen auch zwei- und dreifache Färbungen zeigten. Der alte Standpunkt, Acidität und Alkalinität dadurch zu bestimmen, dass man Lauge resp. Säure bis zum Eintritt der Neutralität zufliessen liess, musste desshalb verlassen werden. Im Gegensatz hiervon wollten wir bei Bestimmung der Alkalinität so lange Säure auffliessen lassen, bis sämmtliche säurebindenden Factoren abgesättigt waren, so dass uns erst der erste Tropfen freier Säure die Endreaction anzeigen sollte. Andererseits wollten wir bei Bestimmung der Acidität solange Alkali zufliessen lassen, bis der erste Tropfen freibleibenden Alkalis uns an-

zeigen würde, dass alle alkalibindenden Factoren vollständig abgesättigt worden seien. — Die Menge der verwendeten Säure musste uns zum Maassstab des Säurebindungsvermögens, der Alkalinität, die verwendete Menge Lauge umgekehrt zum Maassstab des vorhandenen Alkalibindungsvermögens, also der Acidität, werden.

Dabei musste nun berücksichtigt werden, dass wir im Urin auch Körper haben, die zwar Säure und Alkali binden, aber keineswegs zu jenen Factoren gerechnet werden können, die bei der Acidität- und Alkalinität-Bestimmung des Urins für uns ein Interesse haben können, weil sie von den Aciditäts- und Alkalinitätsverhältnissen im Organismus unabhängig sind. Wir meinen Stoffe, wie Harnstoff, Eiweisskörper etc. Es musste also die Forderung an die zu verwendenden Farbstoffe gestellt werden, dass sie für das saure oder Alkalibindungsvermögen dieser Körper unempfindlich seien.

Wir haben nun nach mannigfachen Versuchen als Reagens für freie Säure Alizarinpulver (alizarinsulphonsaures Natrium), Methylorange und Gallein in Verwendung gezogen. Als Indicator für freies Alkali haben wir Alizarinblau, Poirierblau und Brillantcrocein untersucht.

Bei Anwesenheit von	Färbt sich					
	Alizarin.	Alizarinblau.	Methylorange.	Poiriersblau.	Brillantcrocein.	Phenolphtalein.
freien Säuren	citronengelb	orange	roth	blau	roth	farblos
Mononatriumphosphat	orange	orange	orange	blau	roth	farblos
Dinatriumphosphat . .	roth	gelbgrün	gelb	blau	roth	blass rosa
Natrium bicarbonicum	roth	gelbgrün	gelb	blau	roth	farblos
Natrium carbonicum .	violett	dunkelgrün	hellgelb	violett	braunroth	roth
Trinatriumphosphat .	violett	dunkelgrün	hellgelb	violett	braunroth	roth
freiem Alkali	tiefviolett	dunkelgrün	hellgelb	roth	braun	tiefroth

Wir benutzten von diesen Indicatoren 0,5proc. Lösungen.

Poiriersblau[1]), wie es im Handel erhältlich ist, nimmt in Gegenwart von freiem Alkali einen rothvioletten Ton an. Versetzt man aber eine solche Poirierblaulösung mit wenigen Tropfen starker Natronlauge, so dass dieselbe eine rothe Farbe zeigt, und setzt hierauf Salzsäure zu, bis die blaue Farbe wieder eintritt, so erhält man bei genügendem Zusatz von Salzsäure eine tiefblaue Flüssigkeit, die auf ein bis zwei Tropfen $^1/_{10}$-Normal-Alkali scharfen Umschlag in ein reines Roth zeigt. Ammonsalze in etwas erheblicher Menge schieben diesen Umschlag hinaus.

Wie erwähnt, interessiren uns nicht nur die Grösse der Gesammtacidität und Alkalinität des Urins, sondern auch die Grössenverhältnisse der dieselben zusammensetzenden Factoren. Von diesen letzteren kommen im Harn in Betracht: Mono- und Dinatriumphosphat, wie auch das einfach- und doppeltkohlensaure Salz, dann Salze der organischen Säuren, insbesondere der Harnsäure und schliesslich freie organische Säuren.

Zwei Wege konnten zu diesem Ziele führen. Einen Weg bot die Verwendung mehrerer Indicatoren, die eine verschiedene Empfindlichkeit zeigten, so dass die einzelnen Titrirungsresultate für die betreffenden Aciditäts- und Alkalinitätsfactoren specifisch gewesen wären; ein anderer Weg lag darin, einen Indicator zu finden, der auf die einzelnen Säuren und Alkalifactoren verschieden reagirte und somit gestatten würde, bei fortgesetzter Absättigung durch Säure respective Lauge Unterschiede erkennen zu lassen in jenen Momenten, wo eben die freie Säure oder das freie Alkali abgesättigt waren, oder die sauren Salze eben in neutrale resp. alkalische umgewandelt waren. Es gibt nun allerdings Farbstoffe, welche in dieser Beziehung ziemlich vollkommen sind. Dahin gehört das schon erwähnte Alizarin und Gallein. Sowohl das eine wie das andere geben mit freien Säuren lichtgelbe Farben, während sie mit Basen dreierlei verschieden gefärbte Salze bilden.

Mit sauren Salzen geben dieselben orangegelbe Töne, mit neutralen dunkelrothe, mit alkalischen tiefviolette.

---

[1]) Poiriersblau (von Trommsdorff bezogen). Siehe R. Engel und J. Ville, Compt. rend. 100, 1073; J. B. 1885, 1891.

Es musste zunächst festgestellt werden, wie sich die Farbennuancen verhalten, wenn Gemische solcher Salze (von primären, secundären und tertiären) vorhanden sind. Dürfen wir aus der Orangefärbung schliessen, dass nur lediglich saure und keine neutrale, aus der Rothfärbung, dass nur neutrale vorhanden sind etc.?

Diesbezügliche Versuche haben Folgendes gelehrt: Gibt man zu einer Lösung von Mononatriumphosphat bei Anwesenheit von Alizarin auch nur einen Tropfen gleichconcentrirter Lösung von Dinatriumphosphat, so verwandelt sich die orangegelbe Farbe in Roth, ohne dass also alles saure Salz in neutrales umgewandelt worden wäre. Es ist eben Alizarin für zweidrittelgesättigte Salze empfindlicher als für saure (eindrittelgesättigte Salze). Das Vorhandensein von Rothfärbung wird uns also bestimmt als Indicator dienen für die Salze nach Art des Dinatriumphosphates. Keineswegs werden wir aber überall, wo Dinatriumphosphat vorhanden ist, auch Rothfärbung erwarten dürfen. Denn wenn man zu neutralen Salzlösungen einen Tropfen alkalischen Salzes (kohlensauren Salzes oder dreibasischen phosphorsauren Salzes) zusetzt, verwandelt sich die rothe Farbe in eine tiefviolette. Ebenfalls aus dem Grunde, weil Alizarin für das ganz gesättigte Salz empfindlicher ist, als für das zweidrittel gesättigte. Wir können aus der Tiefviolettfärbung das Vorhandensein von alkalischem Salze erschliessen. Andererseits verschwindet, wenn wir zum alkalischen Salz Säure zufliessen lassen, die violette Färbung des Alizarins nicht früher, bis alles alkalische Salz in neutrales (zweidrittel- oder halbgesättigtes Salz) verwandelt ist. Weiter zeigte sich, dass die gelbe Färbung der freien Säure erst dann auftritt, wenn Dinatriumphosphat und Natrium bicarbonicum gänzlich mit dieser Säure gesättigt waren.

Wenn wir also auch nicht direct aus der Farbe das Vorhandensein der verschiedenen Salze erschliessen können, so sind wir doch durch die verschiedenen Eigenschaften dieser Farbstoffe in die Lage versetzt, die Menge der vorhandenen verschiedenen Salze durch Titration zu bestimmen. Denn

wenn wir zu einer Lösung von saurem Salz Natronlauge zufliessen lassen, so wird erst in jenem Moment Violettfärbung auftreten, wo die letzte Spur sauren Salzes in neutrales verwandelt ist und die erste Spur von alkalischem Salz sich gebildet hat. Die Menge Natronlauge, die wir dazu verbraucht haben, ist jene Menge Natron, die nothwendig war, um aus dem sauren Salz neutrales (zweidrittelgesättigtes) zu machen.

Diese Menge drückt uns aber noch nicht das ganze Alkalibindungsvermögen der sauren Salze aus. Denn die eben aus den sauren Salzen gebildeten zweidrittelgesättigten Salze können noch in alkalische (ganzgesättigte) verwandelt werden. Es muss hierzu selbsverständlich die gleiche Menge Natronlauge verwendet werden, die zur Bildung von neutralen aus den sauren nothwendig war. Es muss also in einem solchen Falle die Menge Natronlauge, die wir brauchen werden, um mit Brillantcrocein oder Poirierblau freie Alkalireaction zu erzielen, gerade doppelt so gross sein, als die Menge Natronlauge, die nöthig war, um Alizarin violett zu färben. Trifft dies in einem gegebenen Falle zu, dann können wir daraus schliessen, dass eben nur saure Salze vorhanden waren. Ist die Menge grösser (geringer kann sie ja nicht sein), so erlaubt das uns den Schluss, dass neben dem Mono- auch Dialkalisalz vorhanden ist. Die Differenz gibt uns die Menge Natron an, welche zur Bildung des trialkalischen Salzes aus dem dialkalischen nöthig war.

Wir können somit unter Verwendung von Alizarin und eines Indicators für freies Alkali lediglich durch Zufliessenlassen von Natronlauge einen Maassstab für die mono- und dialkalischen Salze gewinnen. Die Menge des vorhandenen trialkalischen Salzes ist dadurch selbsverständlich nicht zu bemessen. Um diese Art alkalischer Salze (Trinatriumphosphat, kohlensaures Natron etc.) in ihrer Alkalinitätsgrösse kennen zu lernen, müssen wir Säure zufliessen lassen. Die tiefviolette Farbe des Alizarins verschwindet erst, wenn der letzte Theil solchen Salzes durch die hinzugefügte Säure zersetzt ist (in Dinatriumphosphat event. doppeltkohlensaures Salz übergeführt

ist). Die hierzu verwendete Säuremenge kann uns daher einen Maassstab der Alkalinität dieses Salzes bilden.

Durch das Zufliessenlassen von Säure ergibt sich aber noch ein zweiter Weg zur Bestimmung der Alkalinität der dialkalischen Salze, indem man jene Menge Säure in Rechnung zieht, die nöthig ist, um die rothviolette Farbe des Alizarins in die gelbe überzuführen. Die hinzutretende Säure macht z. B. aus dem Dinatriumphosphat Mononatriumphosphat: sobald dies geschehen ist, wird der nächste Tropfen Säure, da sonstiges vorhandenes monoalkalisches Salz keine Säure binden kann, sofort die reingelbe Farbe der freien Säure entstehen.

Mit Rücksicht darauf sind wir nun daran gegangen, die Verwendbarkeit der einzelnen Indicatoren an Salzlösungen bekannter Concentration ausführlicher zu prüfen. Wir benutzten 1 proc. Lösungen von Mono-, Di- und Trinatriumphosphat, sowie halb- und ganzgesättigtem Natriumcarbonat: Die nachstehende Tabelle zeigt die Resultate:

Lösungen.	Alkalinität. Menge der verbrauchten cbcm. $^1/_{10}$-Normal-HCl		Acidität. Menge der verbrauchten cbcm. $^1/_{10}$-Normal-NaOH		
	zur Entfärbung von Phenolphtalein.	zur Gelbfärbung von Alizarin.	zur Dunkelrothfärbung von Phenolphtalein.	zur Violettfärbung von Alizarin.	zur Rothfärbung von Poirierblau.
Von 10 cbcm. 1 proc. Mononatriumphosphat.	—	0,05	8,35 entspricht = 0,98 %.	8,3 entspricht = 1 %.	16,6 entspricht = 1 %.
Von 10 cbcm. 1 proc. Dinatriumphosphat.	0,1	6,9 entspricht = 0,99 %.	0,1	0,1	6,95 entspricht = 0,99 %
Von 10 cbcm. 1 proc. Trinatriumphosphat.	6,3 entspricht = 1,05 %.	12,3 entspricht = 1 %.	—	—	0,05
Von 10 cbcm. 1 proc. Natrium bicarbonicum.	0,1	11,6 entspricht = 0,99 %.	2,0	2,0	11,8 entspricht = 1 %.
Von 10 cbcm. 1 proc. Natrium carbonicum.	9,4 entspricht = 1 %.	18,3 entspricht =0,988 %.	—	—	0,1

Die Wiederholungen obiger Titrirungen haben stets exacte Resultate ergeben und unterschieden sich die einzelnen Resultate höchstens um 0,1 cbcm. Betreffs der Menge des zugefügten Indicators sei angeführt, dass immer nahezu gleiche Mengen verwendet wurden und zwar von Phenolphtalein 2 Tropfen 1 proc. Lösung, von Alizarin 3—4 Tropfen 1 proc. Lösung, von Poirierblau ca. 10 Tropfen 0,5 proc. Lösung.

Bei der Titration mit Phenolphtalein wurde als Endreaction jener Moment angesehen, wo der auffallende Tropfen Lauge keine Verdunkelung des Roth mehr hervorrief. Wir haben diese Endreaction desshalb gewählt, weil die solcher Art erhaltenen Werthe die richtigsten Resultate lieferten und wir uns öfters überzeugten, dass damit vollkommen gleiche Resultate erhalten werden können, wenn man nur halbwegs gleiche Mengen Farbstoffes benutzt. Wir sind dabei so vorgegangen, dass wir Bechergläschen benutzten, so dass die Flüssigkeit in dünner Schichte vorhanden war und über weisser Unterlage titrirten. Wir konnten hierbei, auch wenn schon rothe Farbe eingetreten war, nach jedem weiter zugesetztem Tropfen die dunklen Schlieren bemerken, bis die Endreaction erreicht war, wo keine solche Schlieren mehr hervorzurufen waren. Auch die Verwendung von 5 Tropfen Phenolphtalein ergab, wenn in solcher Weise vorgegangen wurde, keine Aenderung gegenüber dem Resultate mit 2 Tropfen Phenolphtalein. Die bei der Titration mit Alizarin zu erzielenden Endreactionen sind durch die Färbungen gegeben, welche durch Hinzufügung von freier Säure einerseits und Natrium carbonicum andererseits leicht vor Augen zu führen sind. Den Umschlag in Violett kann man in sehr deutlicher Weise erzielen, wenn man zu einer frischen Lösung von reinem Dinatriumphosphat Alizarin zufügt und 1 bis 2 Tropfen $^1/_{10}$-Normalnatronlauge zufliessen lässt. Zu käuflichem Dinatriumphosphat wie zu alten Lösungen desselben muss man mehr Tropfen zusetzen, weil erstere immer Spuren von Mononatriumphosphat, letztere aber Kohlensäure absorbirt enthalten. Nur Lösungen von Natrium bicarbonicum erfordern bei der Titration aus einem später anzuführendem Grunde einige Uebung.

Die mit Gallein erhaltenen Werthe stimmen vollkommen mit den Alizarinwerthen.

Methylorange ergab annähernd dieselben Alkalinitätswerthe wie Alizarin, doch erschien uns die Endreaction von Alizarin sicherer.

Alizarinblau und Brillantcrocein erwiesen sich uns in den uns zur Verfügung stehenden Präparaten als unverlässlich.

Bezüglich der Empfindlichkeit des Alizarins und Galleins gegenüber Kohlensäure ist hervorzuheben, dass zwar die letztere niemals die Reaction freier Säure hervorrufen kann, dass aber Violettfärbung der Farbstoffe nicht eintritt, solange freie Kohlensäure vorhanden ist.

Wie aus vorstehender Tabelle ersichtlich ist, zeigt fast jedes der untersuchten Salze ein ganz eigenthümliches Verhalten seiner Aciditäts- und Alkalinitätsverhältnisse.

Wie das Natrium carbonicum und das Trinatriumphosphat einen Mangel an Acidität zeigen, so weist das Mononatriumphosphat einen Mangel an Alkalinität auf.

Im Gegensatze hierzu zeigen Dinatriumphosphat *und* Natriumbicarbonat sowohl Alkalinität als Acidität. Bei beiden Salzen muss man ebensoviel Säure zusetzen, um die Reaction freier Säure, als Alkali, um die Reaction freien Alkalis zu erhalten.

Während aber beim Dinatriumphosphat ein ganz geringer Zusatz von Natronlauge die tiefviolette Farbe des gesättigten Salzes herbeiführt, muss man beim Natriumbicarbonat *eine* weitaus grössere Menge zusetzen.

Es gilt dies ebenso sehr für Alizarin, wie für Phenolphtalein.

Die Erklärung dieses Umstandes fiel nicht leicht. Natriumbicarbonat, frisch umkrystallisirt, färbt Phenolphtalein nicht oder nur spurenweise, Alizarin roth in demselben Tone wie Dinatriumphosphat; ein geringer Zusatz von Natronlauge sollte darum, da sofort Natriumcarbonat entstehen muss, die Indicatorfarben dieses Salzes herbeiführen. Statt dessen entstand stets zunächst eine Mischfarbe, ein blassrosa bei Phenolphtalein und ein roth mit violettem Stich bei Alizarin, bis

nach Zusatz von 1 cbcm. $^1/_{10}$-Normal-Natronlauge zu 10 cbcm. einer 1 proc. Lösung von Natriumbicarbonat dunkelrothe Färbung des Phenolphtaleins und tiefviolette Färbung des Alizarins eintrat. Die Annahme, dass, so lange noch Natriumbicarbonat vorhanden sei, die dunkelrothe Farbe nicht eintreten konne, erwiess sich als unhaltbar, da dies mit der verwendeten Natronmenge nicht stimmte. Die Annahme, dass überschüssig vorhandene freie Kohlensäure dies Verhalten bedinge, war ebenfalls nicht stichhaltig, weil die Alkalimenge, die nöthig war, um in dieser Natriumbicarbonatlösung Reaction von freiem Alkali mittelst Poiriersblau (Poirierswerth) zu erzielen, genau der vorhandenen Natriumbicarbonatmenge entsprach, während er bei Anwesenheit von überschüssiger Kohlensäure von der Acidität eines Cubikcentimeters $^1/_{10}$-Normalsäure um 2 cbcm. grösser hätte sein müssen. Als Lösung der Frage ergab sich schliesslich, dass der Grund der Erscheinung in einer Dissociation gelegen sein müsse, die bei Verdünnung der Natriumbicarbonatlösung einen Theil derselben in freie Kohlensäure und in einfach kohlensaures Natron trenne, bei deren gleichzeitiger Gegenwart eine Mischfarbe der Indicatoren hervorgerufen werde. Thatsächlich lässt sich dies durch einen einfachen Versuch erweisen. Lässt man zu einer concentrirten Lösung von Natriumbicarbonat Phenolphtalein fliessen, so bleibt die Flüssigkeit fast farblos; verdünnt man nun die Flüssigkeit mit destillirtem Wasser, das an und für sich Phenolphtalein nicht färbt, so nimmt die Natriumbicarbonatlösung sehr rasch eine deutliche Rosafärbung an[1]).

In Bezug auf das Phenolphtalein zeigt die vorstehende Tabelle, dass man die Differenzen der Phenolphtaleinwerthe gegenüber den Alizarin- oder Galleinwerthen keineswegs auf Kohlensäure beziehen darf; es zeigt sich vielmehr, dass die Entfärbung des Phenolphtaleins dann eintritt, wenn sich entweder freie Kohlensäure oder Mononatriumphosphat vorfindet

---

[1]) Diese Dissociationserscheinungen bringen es mit sich, dass die Endreaction bei Lösungen von Natrium bicarbonicum schwieriger, als bei anderen Salzlösungen zu erkennen ist.

und dass die Rothfärbung stets durch das Vorhandensein eines Alkalis, gleichviel ob kohlensaures Salz oder Trinatriumphosphat oder freien Alkalis bedingt ist, und dass nur dort eine Mischfärbung auftritt, wo eben sowohl saure als alkalische Factoren nebeneinander bestehen.

Das begreiflichste Interesse knüpfte sich an jene Versuche, bei denen wir die solcher Art titrirten Flüssigkeiten in gemessener Menge mit einander mischten.

Es wurden folgende Gemische zu gleichen Theilen hergestellt:

a) Natrium carbonicum und bicarbonicum.
b) Natrium carbonicum und Dinatriumphosphat.
c) Natrium bicarbonicum und Dinatriumphosphat.
d) Mononatriumphosphat und Dinatriumphosphat.
e) Natrium bicarbonicum und Mononatriumphosphat.
f) Natrium carbonicum und Mononatriumphosphat.
g) Mononatriumphosphat und Trinatriumphosphat.

Lösungen.

Lösungen.	Alkalinität. Menge der verbrauchten cbcm. 1/10-Normal-H Cl		Acidität. Menge der verbrauchten cbcm. 1/10-Normal-Na OH		
	zur Entfärbung von Phenolphtalein.	zur Gelbfärbung von Alizarin.	zur Dunkelrothfärbung von Phenolphtalein.	zur Violettfärbung von Alizarin.	zur Rothfärbung von Poirierblau.
Von 10 cbcm. 1 proc. Natrium carbonicum	9,4	18,3	—	—	0,1
Von 10 cbcm. 1 proc. Dinatriumphosphat	0,1	6,9	0,1	0,1	6,95
Durch Summirung der Werthe für 10 cbcm. der Mischung zu erwartendes Resultat	4,7	12,6	0,05	0,05	3,5
Durch Titration von 10 cbcm. der Mischung erhaltenes Resultat	4,9	12,5	—	—	3,6

Lösungen.	Alkalinität. Menge der verbrauchten cbcm. $^1/_{10}$ Normal-H Cl. zur Entfärbung von Phenolphtalein.	zur Gelbfärbung von Alizarin.	Acidität. Menge der verbrauchten cbcm. $^1/_{10}$-Normal-Na OH. zur Dunkelrothfärbung von Phenolphtalein.	zur Violettfärbung von Alizarin.	zur Rothfärbung von Poirierblau.
Von 10 cbcm. 1 proc. Natrium carbonicum	9,4	18,3	—	—	0,1
Von 10 cbcm. 1 proc. Natrium bicarbonicum	0,1	11,0	2,6	2,0	11,8
Durch Summirung der Werthe für 10 cbcm. der Mischung zu erwartendes Resultat	4,7	14,9	1,0	1,0	5,9
Durch Titration von 10 cbcm. der Mischung erhaltenes Resultat .	4,6	14,9	1,0	1,0	6,0
Von 10 cbcm. 1 proc. Natrium bicarbonicum	0,1	11,6	2,0	2,0	11,8
Von 10 cbcm. 1 proc. Dinatriumphosphat	0,1	6 9	0,1	0,1	6,95
Durch Summirung der Werthe für 10 cbcm. der Mischung zu erwartendes Resultat	0,1	9,25	1,5	1,5	9,4
Durch Titration von 10 cbcm. der Mischung erhaltenes Resultat .	0,1	9,3	1,3	1,3	9,5
Von 10 cbcm. 1 proc. Mononatriumphosphat	—	0,05	8,35	8,3	16,6
Von 10 cbcm. 1 proc. Dinatriumphosphat	0,1	6,9	0,1	0,1	6,95
Durch Summirung der Werthe für 10 cbcm. der Mischung zu erwartendes Resultat	0,05	3,5	4,11	4,2	11,7
Durch Titration von 10 cbcm. der Mischung erhaltenes Resultat .	—	3,4	4,1	4,1	11,6

Die vorstehenden Tabellen zeigen durchweg, dass die Acidität und Alkalinität der Mischung den Summen der Acidität und Alkalinität ihrer Bestandtheile entsprechen.

Es bestehen demnach unter diesen Verhältnissen auch in den Mischungen beide Salze neben einander.

Speciell in dem Falle, wo Mononatriumphosphat und Dinatriumphosphat mit einander vermischt waren, hat sich dies dadurch erweisen lassen, dass in der Mischung der Gehalt von saurem Phosphat dadurch bestimmt wurde, dass nach Hinzufügung einer überschüssigen Menge von Chlorbaryum der Phosphorsäuregehalt des Filtrats mitttelst Uran titrirt wurde. Der Gehalt an saurem Phosphat entsprach genau dem vorgenommenen Verbindungsverhältniss.

Wesentlich andere Verhältnisse boten sich bei der Untersuchung folgender Mischungen:

	Lösungen.	Alkalinität. Menge der verbrauchten cbcm. 1/10-Normal-H Cl		Acidität. Menge der verbrauchten cbcm. 1/10-Normal-Na OH.		
		zur Entfärbung von Phenolphtalein.	zur Gelbfärbung von Alizarin.	zur Dunkelrothfärbung von Phenolph'alein.	zur Violettfärbung von Alizarin.	zur Rothfärbung von Poirierblau.
a)	Von 10 cbcm. 1 proc. Natrium bicarbonicum	0,1	11,6	2,0	2,0	11,8
	Von 10 cbcm. 1 proc. Mononatriumphosphat	—	0,05	8,35	8,3	16,6
	Durch Summirung der Werthe für 10 cbcm. der Mischung zu erwartendes Resultat	0,05	5,8	5,17	5,15	14,2
	Durch Titration von 10 cbcm. der Mischung erhaltenes Resultat	—	5,6	4,0	3,0	12,0
b)	Von 10 cbcm. 1 proc. Natrium bicarbonicum	9,4	18,3	—	—	0,1
	Von 10 cbcm. 1 proc. Mononatriumphosphat	—	0,05	8,35	8,3	16,6
	Durch Summirung der Werthe für 10 cbcm. der Mischung zu erwartendes Resultat	4,7	9,17	4,17	4,15	8,35
	Durch Titration von 10 cbcm. der Mischung erhaltenes Resultat	0,6	0,59	--	—	9,0

Lösungen.	Alkalinität. Menge der verbrauchten cbcm. 1/10-Normal-HCl.		Acidität Menge der verbrauchten cbcm. 1/10-Normal-NaOH.		
	zur Entfärbung von Phenolphtalein.	zur Gelbfärbung von Alizarin.	zur Dunkelrothfärbung von Phenolphtalein.	zur Violettfärbung von Alizarin.	zur Rothfärbung von Poirierblau.
c) Von 10 cbcm. 1 proc. Mononatriumphosphat	—	0,05	8,35	8,3	16,6
Von 10 cbcm. 1 proc. Trinatriumphosphat	6,3	12,3	—	—	0,1
Durch Summirung der Werthe für 10 cbcm. der Mischung zu erwartendes Resultat	3,15	6,17	4,17	4,15	8,35
Durch Titration von 10 cbcm. der Mischung erhaltenes Resultat	0,05	6,5	0,2	0,2	6,5

Die vorstehende Tabelle a) zeigt demnach, dass die Mischung von Natrium bicarbonicum und Mononatriumphosphat eine geringere Acidität zeigte, als man bei der Summirung der Werthe erwarten sollte. Eine Thatsache, die leicht mit der Beobachtung in Einklang zu bringen ist, dass bei der Mischung Kohlensäure entweicht. Dass die eingetretene Umänderung aber stärker ist, als man nach dem ersten Blick erwarten würde, ergibt sich, wenn man in der Mischung den Gehalt an saurem und neutralem Phosphat mittelst Uran bestimmt[1]). Der Gehalt der Mischung an P_2O_5 beträgt 0,295 gr °/$_0$ entsprechend der Hälfte der zugesetzten Lösung des Monophosphates mit dem Gehalt von 0,59 gr. °/$_0$ P_2O_5. — Von diesen 0,295 gr. °/$_0$ P_2O_5 entfallen auf saure Phosphate nur 0,03 gr. °/$_0$ P_2O_5. Während 0,265 gr. °/$_0$ P_2O_5 auf neutrales Phosphat entfallen. Es ist also aus dem eindrittelgesättigten Salz durch Absättigung mit Natrium bicarbonicum Dinatriumphosphat geworden. — Neben diesem ist aber noch Natrium bicarbonicum überschüssig geblieben, was daraus hervorgeht, dass eine höhere Alkalinität besteht, als dem nach der Phos-

[1]) E. Freund: Ueber eine Methode zur Bestimmung von einfachsaurem Phosphate neben zweifach-saurem Phosphate im Harne. Centralbl. f. med. Wiss., 1892, 38.

phatbestimmung vorhandenen Dinatriumphosphat zukommt. Auch die gefundene Acidität ist höher, als der gefundenen Menge des sauren Phosphates entspricht und muss wohl auf Kohlensäure bezogen werden, die in der Flüssigkeit absorbirt blieb. Auf diese letztere Thatsache ist auch die Differenz zwischen dem Phenolphtalein und Alizarinaciditätswerth zurückzuführen, da Phenolphtalein für Kohlensäure empfindlicher ist als Alizarin.

Wie Tabelle b) zeigt, finden sich im Gemische von Natrium bicarbonicum und Mononatriumphosphat keine eindrittelgesättigten Säuren und es bedarf, um die Violettfärbung des Alizarins herbeizuführen, keines Zusatzes von Alkali. —

Vergleichen wir noch den Poirierwerth mit dem Alizarinalkalinitätswerth, so erhalten wir ein gleiches Bild wie das, dass die Titrirung des Dinatriumphosphates geboten. Thatsächlich ergibt auch die Bestimmung des sauren und neutralen Phosphates mittelst Uran, dass sämmtliche Phosphorsäure als Dinatriumphosphat vorhanden ist. Dies erklärt auch die Differenz zwischen den Alkalinitätswerthen von Phenolphtalein und Alizarin. Nach Zusatz weniger Tropfen Säure ist schon Mononatriumphosphat entstanden und damit Phenolphtalein entfärbt worden. Während die Gelbfärbung bei Alizarin erst entstehen konnte, nachdem sämmtliches Dinatriumphosphat in Mononatriumphosphat überführt wurde.

Die beiden Salze der Tabelle c) haben ihre Aciditäts- und Alkalinitätsverhältnisse ausgeglichen. Trinatriumphosphat ist vollkommen verschwunden. Die Flüssigkeit mit Alizarin versetzt gibt keine violette, sondern rothe Färbung. Dagegen ist Mononatriumphosphat in kleiner Menge vorhanden. Die Hauptmenge ist in Dinatriumphosphat verwandelt. —

Weitere Versuche bezogen sich auf Aciditäts- und Alkalinitätsverhältnisse bei Gemischen von Mono- und Dinatriumphosphat mit harnsauren Salzen.

Wir benützten dazu, um den Verhältnissen des Urans Rechnung zu tragen, eine Lösung von Dinatriumphosphat von 0,4‰ P_2O_5 und von saurem harnsaurem Kalium mit einem Gehalte von 2,23‰ Harnsäure. Diese letztere Lösung wurde

derart bereitet, dass zu einer Lösung von harnsaurem Kali Harnsäure zugefügt wurde und nach längerem Kochen in der Wärme filtrirt wurde. Diese Lösung wurde auch sofort in der Wärme titrirt. Ein Theil dieser Lösung wurde, bevor noch saures harnsaures Salz ausfallen konnte, zu gleichen Theilen mit der Dinatriumphosphatlösung, ein anderer mit Monophosphatlösung, vermischt und ebenfalls in der Wärme der Titration unterzogen. — Die nachstehenden Tabellen ergaben die gefundenen Verhältnisse:

	Lösungen.	Alkalinität. Menge der verbrauchten cbcm. $^1/_{10}$-Normal-HCl		Acidität. Menge der verbrauchten cbcm. $^1/_{10}$-Normal-NaOH		
		zur Entfärbung von Phenolphtalein.	zur Gelbfärbung von Alizarin.	zur Dunkelrothfärbung von Phenolphtalein.	zur Violettfärbung von Alizarin.	zur Rothfärbung von Poirierblau.
d)	Von 10 cbcm. 0.4 proc. Dinatriumphosphat	0,05	1,0	—	0,05	1,1
	Von 10 cbcm. saurem harnsauren Kalium . . . . , .	—	0.5	0,8	0,8	2,40
	Durch Summirung der Werthe für 10 cbcm. der Mischung zu erwartendes Resultat	0,025	0,75	0,4	0,425	1,75
	Durch Filtration von 10 cbcm. der Mischung erhaltenes Resultat	—	0,7	0,4	0,4	1,75
e)	Von 10 cbcm. 1 proc. Mononatriumphosphat	—	0,05	8,35	8.3	16,6
	Von 10 cbcm. saurem harnsauren Kalium	—	0,5	0,8	0,8	2,4
	Durch Summirung der Werthe für 10 cbcm. der Mischung zu erwartendes Resultat	—	0.27	4,57	4,55	9,5
	Durch Titration von 10 cbcm. der Mischung erhaltenes . . .	—	0,25	4,5	4;5	9,5
f)	I. 10 cbcm. Nachmittagsharn	—	10,1	0,6	0,6	12,65
	II. 10 cbcm. Harn vor der Mahlzeit.	—	3,7	1,4	1,4	7,4
	III. 10 cbcm. Harn nach der Mahlzeit	—	7,2	1,2	1,4	10,8

Die Alkalescenz- und Aciditäts-Verhältnisse der Mischung d) entsprechen der Summirung der betreffenden Verhältnisse der Componenten; es könnte demnach scheinen, dass die beiden Salze ohne Veränderung nebeneinander existiren.

Man kann sich aber durch einen einfachen Versuch davon überzeugen, dass dies nicht der Fall ist und dass eine Umsetzung stattgefunden hat, indem ein Theil des sauren harnsauren Salzes zu neutralem harnsaurem Salz wurde, während ein entsprechender Theil des neutralen phosphorsauren Salzes zu saurem harnsaurem Salz wurde.

Die in Verwendung gezogene Lösung von Dinatriumphosphat enthielt bei einem Gehalte von 0,86 gr. ‰ P_2O_5 einen Gehalt von 0,03 gr. ‰ P_2O_5 in Form von saurem Phosphat.

In der Mischung mit gleichem Volumen sauren harnsauren Natrons wäre demnach ein Gehalt von 0,015 gr. P_2O_5 ‰ zu erwarten gewesen.

Statt dessen zeigte die Bestimmung des sauren Phosphates einen Gehalt von 0,15 gr. P_2O_5 ‰, also einen zehnmal höheren Werth als vor der Mischung, während der Gesammt-P_2O_5-Gehalt 0,043 gr. ‰ betrug, also genau der Hälfte entsprach. Die Untersuchung des Harnsäuregehaltes der Mischung ergab genau die Hälfte des Harnsäuregehaltes der ursprünglichen Lösung, was ja damit stimmte, dass Harnsäure nicht ausgeschieden worden war. Ein zweiter Versuch, bei welchem Lösungen von Mononatriumphosphat und saurem harnsaurem Natrium bei einer Temperatur von 40° bereitet und titrirt, miteinander vermischt wurden, ergab, wie die Tabelle e) zeigt, eine Summirung der betreffenden Aciditäts- und Alkalinitätsverhältnisse. Wir besitzen also die Möglichkeit, durch Benutzung der in Rede stehenden Indicatoren in Flüssigkeiten, welche ein Gemenge von Säuren: eindrittelgesättigten, zweidrittelgesättigten und gesättigten oder auch alkalischen Salzen enthalten, quantitativ deren Alkalinität und Acidität zu bestimmen. Die freie Säure durch die Menge Natronlauge, die nöthig ist, die hellgelbe Farbe des Alizarins verschwinden zu machen, die sauren Salze durch die Menge Natronlauge,

welche nöthig ist, die orange gelbe Farbe des Alizarins in die violette überzuführen.

Für die Bestimmung der dem Dinatriumphosphat analogen Salze stehen uns zwei Wege zu Gebote. Einmal, indem wir die Menge NaOH bestimmen, die nöthig ist, um mit Poirierblau oder Brillantcrocein die Farbe des freien Alkali zu erzielen, und von dieser Grösse die Menge NaOH, welche den freien Säuren und sauren Salzen entsprechen, abziehen, oder zweitens, dass wir mittelst Säurezufügung ermitteln, welche Säuremengen nöthig sind, um mit Alizarin die Reaction freier Säuren zu erzielen d. i., die rothe Farbe in die hellgelbe überzuführen.

Die Alkalinität der gesättigten Salze können wir, wenn es nöthig ist, deren Alkalescenz getrennt von der Alkalescenz der dem Dinatriumphosphat analogen Salze zu bestimmen, aus der Menge Natronlauge bestimmen, die nöthig ist, um die tiefviolette Färbung des Alizarins verschwinden zu machen.

Begreiflicher Weise kann man auch bestimmen, ob die Alkalinität von kohlensaurem Salz herrührt, indem man die betreffende Flüssigkeit bis zur freien Säurereaction mit Säure versetzt, kocht und nun nachsieht, wie viel Alkali wieder hinzugefügt werden muss, um alkalische Reaction zu erzielen. Ist die Alkalinität lediglich durch kohlensaures Salz bedingt, dann wird der geringste Zusatz von Alkali schon alkalische Reaction nach sich ziehen.

Die Gesammt-Acidität wird uns durch das zur Rothfärbung des Poirierblau nöthige Alkali, die Gesammt-Alkalinität durch die zur Chlorgelb-Färbung des Alizarins nöthige Säure angegeben.

Nachdem dies festgestellt war, haben wir die genannten Indicatoren zur Titrirung des Urines versucht.

Es hat sich hierbei als praktisch erwiesen, stets nur geringe Quantitäten (10 cbcm.) zur Bestimmung zu benützen; die Resultate sind sehr scharf und verlässlich; will man mit grösseren Quantitäten arbeiten, dann thut man gut, in breiten Bechergläsern über weissem Grunde zu titriren.

Normaler Harn kann unverdünnt zur Titrirung benützt werden; bei stärker gefärbten Harnen ist es unbedingt nöthig,

zu verdünnen und kann man getrost auf das fünffache verdünnen.

Titrirt wurde mit $^1/_{10}$ Normal-Natronlauge und $^1/_{10}$ Normal-Salzsäure.

Die Indicatorlösungen waren:

1 % Phenolphtaleinlösung.
1 % Alizarinlösung (alizarinsulfonsaures Natron).
$^1/_2$ % Poiriersblaulösung.

Von der Phenolphtaleinlösung wurden zu 10 cbcm. Flüssigkeit zwei Tropfen, von der Alizarinlösung drei bis vier Tropfen zugesetzt. Von der Poirierblaulösung, die in der obenerwähnten Weise hergestellt wurde, wurden ca. 10 Tropfen zugesetzt, so dass die Flüssigkeit eine tiefblaue Farbe annahm. In jenen Fällen, wo der Umschlag in Roth nicht scharf eintritt, ist es zweckmässig, einen Ueberschuss an Alkali zuzusetzen und hierauf durch Säurezusatz das Wiedereintreten der violetten Farbe herbeizuführen. Die Differenz beider Werthe ergibt die richtige Aciditätgrösse. Wir haben Beispiels halber drei Titrirungsresultate von Urinen in der Tabelle f) angeführt.

Aus dem ersten Beispiele I geht hervor, dass der Urin, trotzdem er auf Lacmus alkalisch reagirte, doch ausserdem saure Salze enthielt, während die beiden anderen Urine, trotzdem sie auf Lacmus entschieden sauer reagirten, doch eine beträchtliche Menge alkalischen Salzes enthielten. Die Urinproben II und III stammen von einem Individuum; Nr. II vor einer Mahlzeit, Nr. III nach der Mahlzeit; es verdient, als interessant hervorgehoben zu werden, dass der Werth für die sauren Salze durch die Mahlzeit ganz ungeändert geblieben ist, während der Werth für die alkalischen Salze sich auf das Doppelte erhöht hat.

Für die gewöhnlich erforderte Bestimmung der Acidität und Alkalescenz wird es nun nicht nöthig sein, mit allen angeführten Indicatoren zu arbeiten.

Für die meisten Fälle wird es genügen, zwei Urinproben zu nehmen und — wenn nöthig — nach Verdünnung zu 10 cbcm. 2—4 Tropfen Alizarin zu setzen und die entstehende

Farbe zu beachten; rein gelb zeigt freie Säure, tief violett gesättigtes basisches Salz an; ist dies nicht der Fall, dann kann es sich nur um saure Salze und alkalische Salze vom Typus des Dinatriumphosphates handeln. Die Menge Säure, die nöthig ist, rein gelbe Farben zu erzielen, ist ein Massstab der Alkalinität der letzteren; die Menge Natronlauge, die nöthig ist, die violette Farbe herbeizuführen, ist ein Massstab der Acidität der ersteren.

Eine Methode zur titrimetrischen Bestimmung der hauptsächlichsten Factoren der Magenacidität.

Von

Dr. Gustav Toepfer.

(Aus dem pathologisch-chemischen Laboratorium des Dr. E. Freund im k. k. Krankenhause Rudolfstiftung in Wien.)

(Der Redaction zugegangen am 19. December 1893.)

Seit der Zeit, als durch Bidder und Schmidt endgiltig nachgewiesen wurde, dass bei der Verdauung die Salzsäure neben Pepsin den Hauptfactor bildet und nicht die Milchsäure, wie man lange angenommen hat, und seitdem man sich überzeugt hatte, dass die Peptonisation des Eiweisses unter dem Einflusse des Pepsins überhaupt nicht stattfinden kann, wenn nicht vorher oder wenigstens gleichzeitig das Eiweiss unter der Einwirkung der Salzsäure in Acidalbumin übergegangen ist, bildet die Untersuchung der Magenacidität und insbesondere die quantitative Bestimmung des Salzsäuregehaltes eine der wichtigsten Aufgaben, die der Kliniker bei pathologischen Processen des Magens und einer Reihe von Ernährungsstörungen an den medicinischen Chemiker richtet. Wie bekannt, bestimmten Bidder und Schmidt[1]) in einer Portion des Mageninhaltes die gesammte Menge des Chlors, in einer anderen Portion bestimmten sie sämmtliche Basen und berechneten aus diesen die Menge Chlor, welche durch die Basen zu Salzen

[1]) Bidder und Schmidt: Verdauungssäfte und Stoffwechsel. Leipzig 1852.

gebunden werden konnte. Sie fanden dabei einen grossen Ueberschuss an Chlor, welcher naturgemäss auf die Salzsäure bezogen werden musste. Diese Methode ist bis heute eine der genauesten und allen Anforderungen einer exacten chemischen Untersuchung entsprechende anerkannt, besitzt aber den Nachtheil, dass sie in der praktischen Anwendung (und um diese handelt es sich hauptsächlich) sehr viel Zeit in Anspruch nimmt, eine grosse Uebung in der quantitativ chemischen Untersuchung voraussetzt, ausserdem aber chemische Apparate und Einrichtungen braucht, wie dieselben nur in einem gut eingerichteten chemischen Laboratorium vorhanden sind. Heute dient diese Methode hauptsächlich nur der vergleichenden Controle neuer Methoden, die im Laufe der Zeit angegeben wurden und noch immer angegeben werden.

Eine Reihe von solchen Methoden liegt vor, welche die Untersuchungsresultate auf einfacherem und dem untersuchenden Kliniker zugänglichem Wege zu erreichen ermöglichen.

Um die Brauchbarkeit dieser einfacheren Methoden beurtheilen zu können, ist es vor Allem nothwendig, sich darüber klar zu sein, welche Fragen wir beantwortet wünschen; wir müssen den derzeitigen Standpunkt der Verdauungsphysiologie kennen und von da aus die Leistungsfähigkeit einer solchen Methode beurtheilen.

Die neueren Untersuchungen auf diesem Gebiete haben gezeigt, dass Momente für die Verdauungsthätigkeit des Magens von grosser Bedeutung sind, welche noch vor kurzer Zeit wenig oder gar keine Berücksichtigung fanden. Aus der genauen Kenntniss der einzelnen Phasen des Verdauungsvorganges im Magen hat sich ergeben, dass eine Reihe früher ganz allgemein gehandhabter Methoden zu ganz falschen Vorstellungen bei der Beurtheilung einschlägiger Untersuchungsobjecte geführt haben, und daher den klinischen Anforderungen nicht mehr entsprachen.

Der Begriff des Salzsäuregehaltes des Magensaftes hat im Laufe der letzten Jahre eine verschiedene Deutung erhalten. Ursprünglich fasste man als Salzsäuregehalt des

Magensaftes jene Menge anorganischer Säure auf, welche durch die betreffenden Indicatoren wie Methylviolet, Rosanilin oder Tropaeolin angezeigt wurden.

Aus jener Zeit stammen die Angaben von den Velden's[1]) über das Fehlen der Salzsäure bei Magencarcinom und im Beginne jeder Verdauung. Gerade diese letzte Thatsache musste darauf führen, den Standpunkt aufzugeben, dass das Vorhandensein von Salzsäure normal und das Fehlen pathologisch sei. Denn auch im normalen Magensafte können wir demnach eine Phase finden, in der keine Salzsäure vorhanden ist.

Der ganze Litteraturkampf, der sich an jene Angabe von den Velden's schloss, hat an der Richtigkeit dieser Thatsache nichts ändern können. Denn, wenn auch Cahn und Mehring[2]) durch genaue quantitative Analyse eine Menge solcher Fälle fanden, die in Folge der Farbstoffreaction keine Salzsäure enthielten, deren Chlormengen aber durch anorganische Basen nicht abgesättigt erschienen, und daher die Farbstoffreagentien als trügerisch erschienen, so hat sich andererseits durch Versuche von Honigmann und von Norden[3]) herausgestellt, dass die solcher Art gefundene Salzsäure nicht als freie zu betrachten sei, da diese Menge an Eiweisskörper und deren Derivate gebunden ist und nicht als freie Salzsäure in Betracht kommt. Dafür sprach auch die Angabe Klemperer's[4]), dass Salzsäure, welche an organische Basen (Amidosäuren) gebunden war, nicht mehr auf Farbstoffreagentien als freie Salzsäure wirkt. Bei solcher Sachlage bezog sich das Interesse nicht blos auf die freie Salzsäure, sondern auf die Verdauungsfähigkeit der Salz-

---

[1]) v. d. Velden: Ueber Vorkommen und Mangel der freien Salzsäure im Magensafte bei Gastrectasie. Deutsch. Arch. f. kl. Med., Bd. 23, Tafel 4, S. 369, 1879.

[2]) Cahn und v. Mehring: Die Säuren des gesunden und kranken Magens. Deutsch. Arch. f. kl. Med., Bd. 39.

[3]) Honigmann und v. Norden: Ueber d. Verhalten der HCl im carcinomat. Magen. Zeitschr. f. kl. Med., Bd. 13.

[4]) Klemperer: Zur chem. Diagn. der Magenkrankheiten. Zeitschr. f. kl. Med., Bd. 14.

säure. Salkowski[1]) fand, dass in Gemischen von Pepsin-Salzsäure, wo die Salzsäure an Amidosäure gebunden war, die Verdauungsfähigkeit gar nicht beeinträchtigt war.

Andererseits hatten Winter und Hayem[2]) angegeben, dass gerade nur die an Eiweisskörper gebundene Salzsäure für die Verdauung wichtig sei, weil nur diese durch ihre Bindung an Eiweisskörper die Peptonisation derselben anbahnt, während ihnen die freie Salzsäure, d. i. diejenige, die kein Eiweiss mehr zur Bindung vorfindet, als unnöthiger Ueberschuss erscheint.

Damit entwickelt sich der Begriff der locker gebundenen Salzsäure, die wir stets neben der freien Salzsäure zu berücksichtigen haben. Das ist der nunmehrige Standpunkt der Frage, der auch in der neuesten und ausführlichsten Arbeit von Lüttke und Martius seinen Ausdruck findet.

Dieser Anschauung liegt, um zu resumiren, folgende Vorstellung vom Ablauf des Verdauungsprocesses zu Grunde: Nach Einführung der Nahrung wird durch die so erfolgte Reizung die Salzsäure im freien Zustande secernirt und zugleich von den vorhandenen Basen, anorganischer oder organischer Natur, und den Eiweisskörpern nach und nach gebunden. Erst nach Absättigung aller dieser erscheint die Salzsäure als freie Salzsäure. Das ist der Ueberschuss. Es ist natürlich, dass die zur Sättigung der anorganischen sowie einiger organischen Basen (Salkowski und Kumagawa[3]) verbrauchte Menge von Salzsäure für die Verdauungsthätigkeit verloren geht. Der grösste Theil aber bindet sich mit den eingeführten Eiweisskörpern und bildet also den eigentlich in Wirkung getretenen Theil der secernirten Salzsäure. Die weiter abgesonderte Salzsäure bleibt frei und erst nach vollendeter Peptonisation wird auch der zur Bindung mit

---

[1]) Salkowski: Ueber die Bindung der HCl durch Amidosäuren. Virchow's Archiv 1892, Bd. 127.

[2]) Winter und Hayem: Du chimisme stomacal 1891.

[3]) Salkowski und Kumagawa: Ueber den Begriff der freien und gebundenen Salzsäure im Magen. Virchow's Archiv, Bd, 122.

den Eiweisskörpern verbrauchte Theil Salzsäure frei, wie es in letzter Zeit Sansoni[1]) nachgewiesen hat.

Wir müssen demnach von der gesammten secernirten Salzsäure unterscheiden: 1. Die an anorganische Basen gebundene Salzsäure; diese geht für die Verdauung verloren und wir brauchen sie nicht zu bestimmen. 2. Einen Theil, welcher an gewisse organische Basen (Chinin etc) gebunden ist und als solcher auch physiologisch nicht wirksam ist; auch dieser Theil fällt in den Bereich der Bestimmung nicht. 3. Die an Eiweisskörper gebundene Salzsäure, die sogenannte locker gebundene. Diese ist physiologisch wirksam, denn das eben, dass sie mit Eiweiss durch Bildung von Acidalbumin die Peptonisation bei Anwesenheit von Pepsin bewerkstelligt, ist das Maass für die von ihr geleistete nützliche Arbeit. Und erst, nachdem diese Arbeit geleistet wurde, erscheint 4. die freie Salzsäure.

Dementsprechend bemühten sich alle Autoren, Methoden zu schaffen, um diese einzelnen Factoren zu bestimmen.

Das von Bidder und Schmidt angegebene Verfahren, das wir oben besprochen haben, ist zu zeitraubend, besitzt aber in Bezug auf den vorerwähnten Stand der Salzsäurefrage auch noch den Fehler, welchen Klemperer der Methode zum Vorwurf macht, dass sie auch die an organische Basen gebundene Salzsäure mitbestimmt.

Hehner und Seemann[2]) bestimmen die Mengen der organischen Säuren aus dem Gehalt an kohlensauren Alkali, des mit Alkali neutralisirten und veraschten Mageninhaltes und beziehen die Differenz zwischen dieser Acidität und der gesammten Acidität auf Salzsäure.

Cahn und Mehring[3]) destilliren 50 cbcm. filtrirten Mageninhaltes bis $^3/_4$ desselben übergangen sind, füllen wieder auf 50 cbcm. auf und destilliren nochmals bis $^3/_4$ des

---

[1]) Sansoni: Berliner klinische Wochenschrift 1892, Nr. 40. u. 42.

[2]) Seemann: Ueber das Vorhandensein von freier Salzsäure im Magen. Zeitschrift für kl. Medicin, Bd. 5.

[3]) Cahn und v. Mehring; Die Säuren des gesunden und kranken Magens. Deutsches Arch. f. kl. Med., Bd. 39.

Volumens. Auf diese Weise überleiten sie in das Destillat alle flüchtigen Säuren.

Der Rückstand wird einige Male mit je 500 cbcm. Aether ausgeschüttelt, wobei alle Milchsäure in den Aether übergeht. (Hierbei begehen die Autoren einen Fehler, denn auch Salzsäure geht theilweise in den Aether über und wird dann als Milchsäure bestimmt.) Einem so von Milchsäure und flüchtigen Säuren befreiten Mageninhalte wird frischgefülltes Cinchonin bis zur neutralen Reaction zugefügt und dann einige Male mit Chloroform ausgeschüttelt, wobei in das Chloroform das Cinchoninchlorhydrat übergeht. Diese Chloroformauszüge werden eingeengt und im Reste das Chlor als Chlorsilber titrirt. Wie wir sehen, eine sehr umständliche und kostspielige Methode.

Hoffmann[1]) benützt die Eigenschaft der Salzsäurelösungen, Rohrzucker zu invertiren und bestimmt die Salzsäuremenge aus der Grösse der Aenderung des optischen Drehungsvermögens nach Einwirkung einer Portion Mageninhaltes auf eine bestimmte Zuckerlösung.

Jolles und Wallenstein[2]) geben eine Methode zur quantitativen Bestimmung der freien Salzsäure an, welche darauf beruht, dass Eosin in alkalischer oder neutraler Lösung eine Fluorescenz und im grünblauen Theile des Spectrums zwei Absorptionsstreifen zeigen. Einige Milligramme Salzsäure bringen die Fluorescenz sowie die Absorptionsstreifen zum Verschwinden.

Sjöquist[3]) überführt durch Hinzufügen von Baryumcarbonat alle freie Säuren in Baryumsalze und verascht dann, wobei durch Salzsäure entstandenes Chlorbaryum unverändert bleibt. Dieses geht dann bei Extrahiren mit Wasser in das letztere über, während die zu kohlensaurem Baryt verbrannten Baryumsalze der organischen Säuren in

[1]) Hoffmann: Erkennung und Bestimmung der Salzsäure im Magensaft. Centralbl. f. kl. Med., 1889, Nr. 46.

[2]) Jolles: Eine neue Methode zur quant. Bestimmung der freien Salzsäure des Magensaftes. Wiener med. Presse 1890, Nr. 51.

[3]) Sjöquist: Eine neue Methode, freie Salzsäure im Mageninhalte quantitativ zu bestimmen. Zeitschr. f. physiologische Chemie, Bd. 13.

Wasser unlöslich sind. Aus der Menge des Baryums im Wasserextract ist der Salzsäuregehalt berechenbar. Baryumcarbonat ist zwar im Stande, die an Eiweisskörper gebundene Salzsäure in Baryumsalz umzusetzen, aber wenn viel Eiweiss vorhanden ist, so geschieht das nicht leicht ganz; ein Theil bleibt nicht umgesetzt. Ausserdem können eventuell vorhandene Phosphate einen Theil des gebildeten Chlorbaryums unlöslich machen und damit den Salzsäurewerth verringern. Die Fehlergrenzen sind demnach sehr gross.

Bourget[1]) versetzt ähnlich wie Sjöquist 20—30 cbcm. filtrirten Mageninhaltes mit Baryumcarbonat, trocknet ein und verascht. Das Chlorbaryum wird mit Wasser extrahirt und mit concentrirter Sodalösung gefällt, darauf filtrirt und der Niederschlag gut gewaschen. Dann wird der Niederschlag in ein Messkölbchen gebracht, mit 10 cbcm. 1 % Salzsäurelösung gemischt (1 cbcm. dieser Salzsäurelösung entspricht 10 cbcm. Sodalösung) und dann ein Theil vom Filtrate mit der titrirten Sodalösung zurücktitrirt. Als Indicator dient Phenolphtalein.

Leo[2]) entfernt zuerst durch Ausschütteln Fettsäure und Milchsäure und titrirt dann in einem Theile die Acidität unter Anwendung von Phenolphtalein, ein anderer Theil wird mit trockenem Calciumcarbonat versetzt, gut durchgemischt und filtrirt, im Filtrat von neuem die Acidität bestimmt. Aus der Differenz kann man die in Chlorcalcium überführte Menge Salzsäure berechnen.

Mintz[3]) bestimmt nur die freie Salzsäure quantitativ. Dabei verwendet er das Günzburg'sche Reagens. Er verdünnt den Mageninhalt so lange, bis die Phloroglucin-Vanilinreaction ausbleibt. Die Empfindlichkeitsgrenze des

---

[1]) Bourget: Nouveau Procédé pour la recherche et le dosage de l'acide chlorhydrique dans le liquide stomacal. Arch. de méd. expér. 1889, Nr. 6.

[2]) Leo: Diagnostik der Krankheiten der Verdauungsorgane. Berlin 1890.

[3]) Mintz: Eine einfache Methode zur quant. Best. d. freien HCl im Mageninhalte. Wien. Kl. Woch. 1889, Nr. 20.

Günzburg'schen Reagens beträgt nach Mintz 0,036 gr. %₀₀ Salzsäure. Wenn er nun die Verdünnung mit dieser Zahl multiplicirt, erhält er den eigentlichen Werth.

Mörner[1]) wendet Congopapier an. Boas[2]) benützt Congolösung. Beide bestimmen nur die freie Salzsäure. Nachdem aber Congolösung auch für organische Säuren empfindlich ist, begeht man bei dieser Methode öfters Fehler.

Winter und Hayem[3]) sind die ersten, welche die einzelnen Theile der Salzsäure, d. i. die freie und locker gebundene, getrennt bestimmen. Sie gehen dabei folgendermassen vor: Je 5 cbcm. Mageninhalt werden in 3 Tigel gebracht, a, b und c. Im Tigel a wird der Inhalt mit überschüssigem Natriumcarbonat versetzt, sodann alle 3 Tigel über dem Wasserbad getrocknet und im Brutschrank bei 100° bis zur vollkommenen Trockenheit behalten. Der Tigel a wird sodann über freier Flamme leicht geglüht und mit destillirtem Wasser der Rückstand ausgezogen. Sodann wird das vorhandene Chlor mit Silbernitrat ermittelt. Auf diese Weise wird das Chlor der gesammten secernirten Chlormenge ermittelt.

Der zweite Tigel (b) wird, nachdem er vollkommen trocken ist, ebenfalls mit Natriumcarbonat behandelt, geglüht und dann Chlor bestimmt. Die Differenz zwischen a und b ergibt die freie Salzsäure, welche beim Trocknen im Brutofen sich verflüchtigt.

Der dritte Tigel wird direct nach dem Trocknen geglüht. Die in ihm vorgefundene Chlormenge gehört den Chloriden. Die Differenz aus der Chlormenge des Tigels b und des Tigels c ergibt die an organische Körper gebundene Salzsäure.

In letzter Zeit ist in einer ausführlichen Arbeit von Martius und Lüttke[4]) neben physiologischen Daten über

---

[1]) Mörner: Maly, Jahresber. für Thier-Chemie, Bd. 19.

[2]) Boas: Beitrag zur Methodik der Salzsäurebestimmung im Mageninhalte. Centralbl. f. kl. Med. 1891, Nr. 2.

[3]) G. Hayem et Winter: Recherches sur le chimisme stomacal à l'état normal et à l'état pathologique. Bullet. méd. 1889, Nr. 95. Du chimisme stomacal, Paris 1891.

[4]) F. Martius und J. Lüttke: Die Magensäure des Menschen. Stuttgart 1892.

die Magensäuren auch eine Methode angegeben worden, welche unabhängig von der von Winter und Hayem angegebenen denselben Zweck verfolgt, die beiden Salzsäuren (die freie und die locker gebundene) nebeneinander quantitativ zu bestimmen.

Sie gehen nach dem Plane von Bidder und Schmidt vor und bestimmen zuerst den gesammten Chlorgehalt nach Volhard und Falck. Sodann bestimmen sie die an Eiweisskörper und organische Basen gebundene Salzsäure durch Verbrennung eines gemessenen Theiles des zu untersuchenden Mageninhaltes. Auf Seite 102 ihrer Arbeit heisst es: Die Salzsäure findet sich im Mageninhalte theils gebunden an Eiweissstoffe, theils frei. Beim Verbrennen solchen Mageninhaltes verflüchtigt sich sowohl die gänzlich freie Salzsäure als auch diejenige Menge, welche an organische Basen gebunden war. Anders verhalten sich die in Betracht kommenden chemischen Verbindungen der Salzsäure mit anorganischen Basen, die beim Verbrennen nicht flüchtig sind, also in der Asche zurückbleiben. Nur bei sehr starkem und anhaltendem Erhitzen auf Rothgluth gelingt es, auch diese Chloride zu verflüchtigen. Durch Substraction des den Chloriden entsprechenden Chlors von der Menge des vorgefundenen gesammten Chlors berechnen sie sodann die freie plus der locker gefundenen Salzsäure. Ausserdem wird mit Phenolphtaleïn die Gesammtacidität bestimmt. Die Differenz zwischen der so bestimmten Gesammtacidität und den oben gefundenen Werthen für die freie plus der gebundenen Salzsäure ergibt die Menge der organischen Säuren.

Die Differenz zwischen diesem letzten Werth und dem Werth für die freien Säuren, welchen man durch Titration mit Tropaeolin OO[1]) erhält, stellt die Grösse der freien Salzsäure dar. Die Grösse der locker gebundenen Salzsäure

---

[1]) Tropaeolin OO, das Natronsalz des Sulphanilsäureazodiphenilamins. ist nur für anorganische Säuren empfindlich, für organische Säuren unempfindlich. — Dagegen ist Tropaeolin D, das Natronsalz des Sulphanilsäureazodimethylanilins (Methylorange) auch für organische Säuren empfindlich.

ergibt sich naturgemäss durch Abzug des Werthes für freie Salzsäure von dem obengefundenen Werth für die freie plus locker gebundene Salzsäure.

Dieses Verfahren wird gewiss allen Ansprüchen der Genauigkeit entsprechen und gehört nicht zu den langwierigsten. Trotzdem ist dieses Verfahren zu zeitraubend, um den Anforderungen einer Klinik oder eines Krankenhauses zu genügen. Für den praktischen Arzt ist es geradezu undurchführbar. Diese Gründe haben es als wünschenswerth erscheinen lassen, trotz der vielen vorhandenen, nach einer neuen Methode zu suchen, welche gleiche Genauigkeit der Bestimmung mit einfacheren Mitteln und in kürzerer Zeit gestattet. Als besonders zweckentsprechend musste eine Methode erscheinen, welche lediglich mit Hilfe verschiedener Indicatoren die Bestimmung der einzelnen Aciditätsfactoren gestatten würde. Als ein besonders wichtiger Indicator in dieser Beziehung musste ein Farbstoff erscheinen, der nur für freie anorganische Säuren empfindlich war. Als solcher fand sich nach längeren Versuchen Dimethylamidoazobenzol[1]).

Dieser Farbstoff zeichnet sich von den bisher bekannten für diesen Zweck verwendeten dadurch aus, dass er weit empfindlicher ist als diese, indem schon ein Tropfen einer $^1/_{10}$ Normal-Salzsäurelösung auf 5 cbcm. destillirten Wassers die neutrale gelbe Farbe des Indicators in eine röthliche umschlagen lässt. Andererseits geben organische Säuren erst in einer Concentration von über 0,5 % röthliche Färbung, welche zudem auch bei viel höheren Concentrationen ausbleibt, wenn selbst ganz geringfügige Mengen von Eiweisskörpern, Pepton oder Mucin vorhanden sind. Die Vorwürfe, welche derartigen Indicatoren bisher gemacht wurden, bezogen sich darauf, dass dieselben doch nicht die Phloroglucinvanilinprobe an Empfindlichkeit ersetzen können. Es wurde desshalb die Verwendbarkeit dieses Indicators durch den Vergleich mit der Günzburg'schen Probe zu erforschen versucht. Zu diesem Zwecke wurden Lösungen einmal von

[1]) Dieser Farbstoff wurde in die Acidimetrie von B. Fischer und O. Philipp eingeführt. Anal. Pharm. 23, S. 434.

Salzsäurelösungen und zweitens von Mageninhalt soweit verdünnt, dass eben noch die Reaction von Günzburg zu sehen war. Solche Lösungen ergaben deutliche Dimethylamidoazobenzol-Reaction.

Andererseits wurde auch nachgesehen, ob diese Empfindlichkeit des Farbstoffes mit der physiologischen Verdauungsfunction übereinstimmt. Zu diesem Zwecke wurden 10 Eprouvetten (1—10) mit je 5 cbcm. einer 0,5°/₀ Eieralbuminlösung gefüllt und zur ersten 1 Tropfen, zur zweiten 2 und s. w. bis 10 Tropfen einer $^1/_{10}$ Normal-Salzsäure zugesetzt. Sämmtliche Eprouvetten werden dann mit gleicher Menge Pepsin versehen und in jede eine Fibrinflocke gegeben, sodann bei 37° verdaut. Die Eprouvetten 1—5 zeigten keine verdauende Wirkung auf die Fibrinflocken, in der Eprouvette 6 erste Spuren, in der letzten Eprouvette (10) vollkommene Verdauung. Hierauf wurden von jeder Eprouvette Proben entnommen und sodann mit Phloroglucinvanilin gemisch einerseits, Dimethylamidoazobenzol andererseits, geprüft. Es zeigte sich, dass die aus No. 6 entnommene Probe die Dimethylamidoazobenzol-Reaction zeigte, während die Phloroglucinvanilin-Reaction ausblieb. Die Proben aus den Eprouvetten 1—5 zeigten mit Dimethyladimoazobenzol keine rothe Färbung.

Aus diesem Uebereinstimmen mit der Phloroglucinvanilinprobe einerseits und überdies aus dem Mangel der Reaction in den 5 ersten Probirgläschen, in denen doch Salzsäure vorhanden war, aber in einem an Eiweiss gebundenen Zustande, schlossen wir, dass dieser Indicator nur für freie Salzsäure empfindlich ist. Dimethylamidoazobenzol musste also als den früher erwähnten Anforderungen entsprechender Indicator angesehen werden.

Für die Bestimmung der weiteren Aciditätsfactoren hat sich nach langen Untersuchungen die Verwendung von Phenolphtalein und Alizarin als zweckentsprechend erwiesen.

Phenolphtalein desshalb, weil es für alle Aciditätsfactoren empfindlich ist und daher zur Titrirung der Gesammtacidität verwendet werden kann.

Alizarin (alizarinsulphonsaures Natron) desshalb, weil es für alle Aciditätsfactoren empfindlich ist, mit Ausnahme der locker gebundenen Salzsäure und uns also die Differenz zwischen dem Phenolphtaleinwerth und dem Alizarinwerth die Grösse der locker gebundenen Salzsäure angibt. Der Nachweis dieser Thatsache, deren theoretische Grundlage noch klarzulegen ist, wurde dadurch geführt, dass eine grosse Reihe von Bestimmungen erstens künstlicher Gemische, deren Zusammensetzung bekannt war, mit diesen Indicatoren durchgeführt wurde und zweitens eine Reihe von nativen Magensäften untersucht wurde und die erhaltenen Resultate mit den Resultaten nach den mit der Methode Martius-Lüttke erhaltenen verglichen werden.

I. Versuch.

40 cbcm. einer 1 % Eieralbuminlösung,
5 cbcm. einer 5 % Essigsäure,
5 cbcm. einer 1 % Milchsäure,

davon wurden je 5 cbcm. titrirt mit $^1/_{10}$ Norm.-Na OH.

Titration mit Phenolphtalein = 4,0 cbcm. $^1/_{10}$ Norm.-Na OH.
» » Alizarin = 4,0 » »
Differenz = 0.

II. Versuch.

Je 10 cbcm. einer 5 % Eieralbuminlösung nach Zusatz von je 2 cbcm. einer beiläufig 5 % Essigsäure wurden mit $^1/_{10}$ Norm.-Na OH titrirt.

Titration mit Phenolphtalein = 12,2 cbcm. $^1/_{10}$ Norm.-Na OH.
» » Alizarin = 12,2 » »
Differenz = 0.

Dimethylamidoazobenzol-Reaction negativ (gelbe Färbung.)

III. Versuch.

Je 8 cbcm. einer 5 % Eieralbuminlösung nach Zusatz von je 1 cbcm. einer beiläufig 5 % Essigsäure würden mit $^1/_{10}$ Norm.-Na OH titrirt.

Titration mit Phenolphtalein = 6,1 cbcm. $^1/_{10}$ Norm.-Na OH.
» » Alizarin = 6,1 » »
Differenz = 0.

IV. Versuch.

Je 10 cbcm. einer 5 % Serumalbuminlösung wurden nach Zusatz einer beiläufig 5 % Essigsäure mit $^1/_{10}$ Norm.-Na OH titrirt.

Titration mit Phenolphtalein = 6,15 cbcm. $^1/_{10}$ Norm.-Na OH.
» » Alizarin = 6,15 » »
Differenz = 0.

Dimethylamidoazobenzol-Reaction negativ.

V. Versuch.

30 cbcm. einer 5 % Eieralbuminlösung,
10 » $^{1}/_{4}$ Norm.-Essigsäure, deren Gehalt also 0,2992 % war, und
10 » Aquae destillatae, je 5 cbcm. von dieser Mischung werden titrirt:

mit Phenolphtalein = 2,5 $^{1}/_{10}$ Norm.-NaOH.
» Alizarin = 2,5 »

Differenz = 0.

2,5 cbcm. $^{1}/_{10}$ Norm.-NaOH ergibt einen Gehalt von 0,2995 gr. % Essigsäure. Wir erhalten somit den Werth für die Essigsäure bis auf den Unterschied von 0,0003 pro 100 cbcm.

VI. Versuch.

30 cbcm. einer 5 % Eieralbuminlösung,
10 » $^{1}/_{4}$ Normal-Salzsäure, d. i. 0,9 %,
10 » Aquae destil.,

der Gehalt an Salzsäure beträgt demnach 0,18 gr. %, je 5 cbcm. dieser Mischung werden titrirt:

mit Phenolphtalein = 2,85 cbcm. $^{1}/_{10}$ Norm.-NaOH.
» Alizarin = 2,6 » »

Differenz = 0,25 cbcm. $^{1}/_{10}$ Norm.-NaOH,
d. i. 0,018 gr. % locker geb. Salzsäure,

mit Dimethylamidoazobenzol — 2,3 cbcm. $^{1}/_{10}$ Norm.-NaOH, d. i. 0,165 gr. % freier Salzsäure, also zusammen Salzsäure = 0,1836 gr. %.

Aus diesem Versuch geht hervor, dass wir die gesammte zugefügte Salzsäure wieder finden, jedoch ist die Gesammtacidität, die wir mittelst des Phenolphtaleins finden höher, u. z. um 0,3 cbcm. einer $^{1}/_{10}$-Normal-NaOH. Nachdem nach Zusatz von Essigsäure die Gesammtacidität nicht grösser wurde, als es der zugefügten Säure entsprach, wie wir aus dem Versuch V ersehen, so müssen wir annehmen, dass durch Zusatz der Salzsäure aus den verwendeten Eiweisskörpern irgend welche sowohl auf Phenolphtalein wie auch auf Alizarin sauer wirkende Substanzen frei geworden sind. Auf die Natur derselben einzugehen, ist hier nicht der Ort. Für die Methode selbst hat dieser Umstand keine weitere Bedeutung. Denn wenn auch dasselbe bei Einfuhr von Eiweisskörpern in den Magen geschieht, so ist es für die Untersuchung irrelevant, ob die gefundene Gesammtacidität durch Factoren, die im Magen selbst sich

befinden, gegeben ist, oder durch Factoren, die erst aus den Eiweisskörpern durch Einwirkung der Salzsäure entstehen. Andererseits bestimmen auch Lüttke und Martius die Gesammtacidität mittelst Phenolphtalein und begehen somit denselben geringen Fehler.[1])

VII. Versuch.

30 cbcm. einer 5 % Eieralbuminlösung,
10 » » 1/4 Norm.-Salzsäure,
10 » » 1/4 Norm.-Essigsäure.

In dieser Mischung befinden sich also 0,18 gr. % Salzsäure u. 0,2992 gr. % Essigsäure, je 5 cbcm. werden titrirt:

mit Phenolphtalein = 5,75 cbcm. 1/10 Norm.-Na OH.
» Alizarin = 5,5 » »

Differenz = 0,25 cbcm. 1/10 Norm.-Na OH,
d. i. 0,118 gr. % locker gebundene Salzsäure,

mit Dimethylamidoazobenzol = 2,3 cbcm. 1/10 Norm.-Na OH, d. i. 0,1656 gr. % freier Salzsäure, beträgt also zusammen Salzsäure = 0,1836 gr. %.

Auch hier erhalten wir für die Gesammtacidität einen grösseren Werth. Die Ursache dieser Erscheinung ist bereits im Versuch V und VI besprochen.

VIII. Versuch.

30 cbcm. einer Serumalbuminlösung,
10 » » 1/10 Norm.-Salzsäure,
10 » » 1/10 Norm.-Essigsäure.

Gehalt an Salzsäure = 0,18 gr. %, an Essigsäure 0,2992 gr. %, je 5 cbcm. von dieser Mischung titrirt:

mit Phenolphtalein = 5,8 cbcm. 1/10 Norm.-Na OH.
» Alizarin = 4,6 » »

Differenz = 1,2 cbcm. 1/10 Norm.-Na OH,
d. i. 0,0864 gr. % locker gebundene Salzsäure.

mit Dimethylamidoazobenzol = 1,35 cbcm. 1/10 Norm.-Na OH, d. i. 0,0972 gr. % freier Salzsäure, zusammen also finden wir 0,1836 gr. % Salzsäure.

Auch hier ist die Gesammtacidität höher, als es den Werthen der zugefügten Säuren entsprechen sollte (vgl. Versuch V, VI, VII).

---

[1]) Es wird demnächst darüber Mittheilung gemacht werden, worauf sich diese Differenz bezieht.

Sämmtliche Titrirungen der nachfolgenden Reihe wurden mit $^1/_{10}$ Normal-NaOH ausgeführt.

1. Mageninhalt (Erbrochenes) 20 cbcm., je 5 cbcm. davon werden titrirt:
   mit Phenolphtalein = 0,55 cbcm. $^1/_{10}$ Norm.-NaOH,
   » Alizarin = 0,55 » »

   Differenz = 0.

   Gesammtacidität = 0.0396 % in Salzsäure ausgedrückt. Dimethylamidoazobenzol-Reaction negativ.
   Keine locker gebundene Salzsäure, keine freie Salzsäure. Nach Martius und Lüttke dasselbe Resultat.

2. Mageninhalt (Erbrochenes) 50 cbcm., je 5 cbcm. davon werden titrirt:
   mit Phenolphtalein = 1,3 cbcm. $^1/_{10}$ Norm.-NaOH,
   » Alizerin = 0,6 » »

   Differenz = 0,7 cbcm. $^1/_{10}$ Norm.-NaOH,
   d. i. 0,0504 % locker gebundene Salzsäure,
   mit Dimethylamidoazobenzol = 0,1 cbcm. $^1/_{10}$ Norm.-NaOH,
   d. i. 0,0072 % Salzsäure frei.
   Nach Lüttke und Martius erhielten wir:
   locker gebundene Salzsäure = 0,0526 %, folglich mehr um 0,0022 %,
   freie Salzsäure = 0,0072 %.

3 Magenspülflüssigkeit 300 cbcm., je 5 cbcm. davon werden titrirt:
   mit Phenolphtalein = 1,5 cbcm. $^1/_{10}$ Norm.-NaOH,
   » Alizarin = 0,8 » »

   Differenz = 0,75 cbem. $^1/_{10}$ Norm.-NaOH,
   d. i. 0,0504 % locker gebundene Salzsäure,
   mit Dimethylamidoazobenzol = 0,4 cbcm. $^1/_{10}$ Norm.-NaOH,
   d. i. 0,0288 % freier Salzsäure.
   Nach Martius und Lüttke erhielten wir:
   locker gebundene Salzsäure = 0,0562 %, folglich mehr um 0,0058 %,
   freie Salzsäure = 0,029 %, » » » 0,0002 %.

4 Mageninhalt (Erbrochenes) 500 cbcm., je 10 cbcm. davon werden titrirt:
   mit Phenolphtalein = 8,0 cbcm. $^1/_{10}$ Norm.-NaOH,
   » Alizarin = 5,0 » »

   Differenz = 3,0 cbcm. $^1/_{10}$ Norm.-NaOH,
   d. i. 0,108 % locker gebundene Salzsäure.
   mit Dimethylamidoazobenzol = Spuren unbestimmbar.
   Nach Martius und Lüttke erhielten wir:
   locker gebundene Salzsäure = 0,133 %, folglich mehr um 0,025 %.

5. Magenspülflüssigkeit 500 cbcm., je 20 cbcm. davon werden titrirt:
   mit Phenolphtalein = 4,7 cbcm. $^1/_{10}$ Norm.-NaOH,
   » Alizarin = 3,35 » »

   Differenz = 1,35 cbcm. $^1/_{10}$ Norm.-NaOH,
   d. i. 0,0243 % locker gebundene Salzsäure,
   mit Dimethylamidoazobenzol = 1,75 cbcm. $^1/_{10}$ Norm.-NaOH,
   d. i. 0,0315 % freier Salzsäure.
   Nach Martius und Lüttke erhielten wir:
   locker gebundene Salzsäure = 0,133 %, folglich mehr um 0,025 %.

6. Mageninhalt (Erbrochenes) 20 cbcm., je 5 cbcm. davon werden titrirt:
   mit Phenolphtalein = 1,5 cbcm. $^1/_{10}$ Norm.-NaOH,
   » Alizarin = 1,1 » »

   Differenz = 0,4 cbcm. $^1/_{10}$ Norm.-NaOH,
   d. i. 0,288 % locker gebundene Salzsäure,
   Dimethylamidoazobenzol Reaction negativ.
   Nach Martins und Lüttke erhielten wir:
   locker gebundene Salzsäure = 0,0248 %, folglich weniger um 0,004 %.

7. Mageninhalt (Erbrochenes), je 50 cbcm. werden titrirt:
   mit Phenolphtalein = 11,1 cbcm. $^1/_{10}$ Norm.-NaOH.
   » Alizarin = 7,9 » „

   Differenz = 3,2 cbcm. $^1/_{10}$ Norm.-NaOH,
   d. i. 0,023 % locker gebundene Salzsäure,
   mit Dimethylamidoazobenzol negativ.
   Nach Martius und Lüttke erhielten wir:
   locker gebundene Salzsäure = 0,0213 %, folglich weniger um 0,0017 %.

8. Mageninhalt (Erbrochenes), je 10 cbcm. wurden titrirt:
   mit Phenolphtalein = 7,4 cbcm. $^1/_{10}$ Norm.-NaOH.
   » Alizarin = 2,9 » »

   Differenz = 4,5 cbcm. $^1/_{10}$ Norm.-NaOH,
   d. i. 0,162 % locker gebundene Salzsäure.
   Dimethylamidoazobenzol Reaction negativ.
   Nach Martius und Lüttke erhielten wir:
   locker gebundene Salzsäure = 0,165 %, folglich mehr um 0,003 %.

Aus den obigen Vergleichen der nach dieser Methode erhaltenen Resultate mit denen der Methode Martius und Lüttke gewonnenen ergeben sich Differenzen im Mittel von 0,006 gr. % und zwar waren unsere Werthe mit Ausnahme eines einzigen Falles (7) immer kleiner, als die mit der Methode Martius und Lüttke erhaltenen.

Anordnung der Untersuchung.

Zu diesem Zwecke sind nothwendig:

1. Eine $^1/_{10}$ normale Natronlauge.
2. Eine 1 % alkoholische Phenolphtaleinlösung.
3. Eine 1 % wässerige Alizarinlösung (alizarinsulphonsaures Natron).
4. Eine 0,5 % alkoholische Dimethylamidoazobenzollösung.

In drei Porzellanschälchen oder Bechergläsern werden je 5 oder je 10 cbcm. des Mageninhaltes abgemessen. — Der ersten Portion setzt man 1—2 Tropfen der Phenolphtaleinlösung zu und titrirt mit der Natronlauge. — Die Erfahrung hat gelehrt, dass man am besten thut, Natronlauge bis zur Austitrirung zuzusetzen, d. i., nicht bis zum Eintreten des ersten Roth, sondern bis zum ganz dunkeln Roth.

Wenn wir nämlich zu einer sauren Lösung Phenolphtalein zusetzen, erleidet dieselbe bekanntlich zunächst keine Farbenveränderung. Die beim Eintropfen der Natronlauge auftretende rothe Farbwolke verschwindet wieder, bis wir an einen Punkt gelangen, wo ein Farbenumschlag der ganzen Flüssigkeit in Rosaroth plötzlich eintritt. Es ist nothwendig, darauf hinzuweisen, dass dieser Moment als Endreaction der Titrirung nicht gemeint ist. Bei jedem weiteren Tropfen des Alkali tritt in der blassrothen Lösung eine dunkelrothe Farbwolke auf, die beim Umschütteln wieder verschwindet, wobei die Lösung allmälig einen immer dunkler werdenden Farbenton annimmt.

Endlich gelangt man zu dem Punkte, wo ein weiterer Zusatz des Alkali kein weiteres Dunkelwerden der intensiv dunkelrothen Farbe bewirkt[1]).

Dieser Moment ist als die Endreaction anzusehen.

---

[1]) Mit Rücksicht auf den geringen und stets gleichen Zusatz von Phenolphtalein ist die Endreaction von der Menge des Phenolphtaleins unabhängig.

Der zweiten Portion setzt man 3 bis 4 Tropfen der Alizarinlösung zu und titrirt bis zum Auftreten der ersten reinvioletten Färbung. Zur Einübung dieser Titration ist es am besten, sich folgende Lösungen herzustellen:

1. 5 cbcm. Wasser.
2. 5 cbcm. Dinatriumphosphatlösung (1 %).
3. 5 cbcm. Natriumcarbonatlösung (1 %).

Zu jeder setze man je 2—3 Tropfen der Alizarinlösung zu. Die erste Lösung wird dann gelb gefärbt sein, die zweite roth oder roth mit leichtem violettem Stich, die dritte rein violett.

Diese letzte mit Natriumcarbonat erreichte Färbung ist diejenige, bis zu welcher wir bei der Titrirung unter Verwendung von Alizarin gehen müssen.

Bei einiger Uebung ist das Umschlagen aus dem Roth (wie es bei der Dinatriumphosphatlösung der Fall ist) in das Violette leicht zu erkennen.

In das dritte Porzellanschälchen oder Bechergläschen setzen wir sodann 3—4 Tropfen der Dimethylamidoazobenzollösung zu. Entsteht gelbe Färbung, so ist keine freie Salzsäure vorhanden. — Ist rothe Färbung vorhanden, so setzen wir so lange Natronlauge zu, bis die letzte Spur von Roth verschwunden ist.

Die durch Titration unter Anwendung des Dimethylamidoazobenzol gefundene Grösse, stellt uns den Werth der freien Salzsäure dar.

Die Differenz zwischen den durch Titration bei Anwendung von Phenolphtalein und Alizarin erhaltenen Grössen stellt den Werth für die locker gebundene Salzsäure dar.

Der durch Titration unter Anwendung von Phenolphtalein erhaltene Werth gibt uns die Gesammtacidität an.

Wenn wir nun von dieser letzten Grösse die Werthe für die freie und locker gebundene Salz-

säure abziehen, so erhalten wir den Werth für die übrigen Säurefactoren, insbesondere organische und saure Salze[1]).

Zum Schluss sei es mir gestattet, meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Dr. Ernst Freund, an dieser Stelle meinen tiefgefühlten Dank für die Anregung und Förderung meiner Arbeit auszusprechen.

---

[1]) Bei Benutzung von $^{1}/_{10}$ Normal-Lösungen und Untersuchung von 10 cbcm. Flüssigkeit erhält man bei Multiplikation mit 0,036 den percentualen Werth der einzelnen Aciditäten in gr. Salzsäure ausgedrückt.

Weitere Beobachtungen über den Einfluss täglich einmaliger oder fractionirter Nahrungsaufnahme auf den Stoffwechsel des Hundes.

Von

Carl Adrian.

(Der Redaction zugegangen am 8. Januar 1894.)

Auf Seite 628 des XVII. Bandes dieser Zeitschrift, gelegentlich einer Besprechung des «Einflusses täglich einmaliger oder fractionirter Nahrungsaufnahme auf den Stoffwechsel des Hundes», hatte ich als Wirkung der Zertheilung der täglichen Nahrung reinen Fleisches in vier Portionen gefunden:

1. Zunahme des Körpergewichtes,
2. Zunahme der Stickstoffausscheidung,
3. Zunahme des im Harnstoff ausgeschiedenen Stickstoffs,

und zur Erklärung dieser Thatsachen angeführt, «dass bei gleicher täglicher Fleischration, wenn sie in vier auf den Tag vertheilten Fractionen gereicht wird, ein grösserer Theil des Eiweiss als solches zur Resorption gelange, als wenn das Ganze auf einmal gegeben wird». Zugleich hatte ich hier hervorgehoben, dass die Ausnützung der Eiweissstoffe im Organismus nur dann eine vollständige ist, wenn von dem eingeführten Eiweiss möglichst wenig in den Fäces zur Aus-

Ausscheidung gelangt und möglichst wenig von diesem Eiweiss durch Pancreaswirkung und Fäulniss der Spaltung unterliegt, also in Summa ein möglichst grosser Theil des in den Magen eingeführten Eiweiss ohne Spaltung zu erfahren, als Eiweiss (Acidalbumin, Propepton, Pepton zur Resorption gelangt.

Ich hatte mir vorbehalten, auf diesen Punkt noch näher einzugehen.

Zweck meiner ersten Abhandlung war es, zu sehen, wie sich die Ausnützung der Eiweissstoffe gestaltet beim Fleischfresser bei einmaliger und fractionirter Kost. Es wurde dabei jedoch nur auf die Ausscheidung des Stickstoffs bezw. Harnstoffs des Harnes Rücksicht genommen. — Zweck dieser Arbeit ist es, neben der Stickstoffausscheidung des Harnes auch die des Kothes zu berücksichtigen und zugleich die durch Fäulniss bewirkten Zersetzungsproducte unter denselben Bedingungen zu berechnen, um daraus eventuell Schlüsse zu ziehen bezüglich der Menge des Eiweiss als solchen, die ins Blut aufgenommen wurde[1]), da, wie oben angedeutet, die durch Pancreasferment- und Fäulnisswirkung erzeugten Spaltungsproducte für den Organismus von ganz anderer und zwar geringerer Bedeutung sind, daher von den durch Bestimmung der Menge des Gesammtstickstoffs im Harne zu eruirenden Zahlen abgezogen werden müssen.

Ueber die Zersetzungsvorgänge im Darmkanal können wir nach dem Gehalt ihrer Producte im Harn urtheilen, in welchem dieselben als Verbindungen verschiedener aromatischer Körper in Form der sog. Aetherschwefelsäuren sich darstellen. Die erste Stelle unter diesen Verbindungen nimmt die Indoxylschwefelsäure, das Indican, ein und gilt infolge dessen bei vielen Autoren (Jaffé, Senator, De Vries, Henniga, Brieger) als Maassstab der pathologischen Darmfäulniss in Form der unsicheren Jaffé'schen Methode.

---

[1]) Für den Pflanzenfresser versuchte Tappeiner (Untersuchungen über die Eiweissfäulniss im Darmkanale der Pflanzenfresser, Zeitschr. f. Biol., Bd. 20, S. 215, 1884) eine derartige Schätzung durch Berechnung des Phenols im Darm.

Ich hatte schon in meiner früheren Arbeit hervorgehoben, dass eine Bestimmung der Menge der durch Pancreasverdauung gebildeten Zersetzungsproducte bis jetzt unmöglich, dass wir hinsichtlich der durch Fäulniss hervorgerufenen Menge von Zersetzungsproducten im Harne am Indoxylgehalt — gemeint war die neue Obermayer'sche Methode[1]) — einen allerdings noch näher auf die Breite seiner Anwendbarkeit zu prüfenden Maassstab besitzen; inzwischen hat Krauss[2]) diesen Weg nach der Obermayer'schen Methode mit Erfolg betreten, doch bemerkt er mit Recht, «dass wegen den dabei vorkommenden grösseren Schwankungen es angezeigt erscheint, nicht nur die Vermehrung eines aromatischen Körpers allein, sondern diejenige ihrer Gesammtmenge als Werthmesser in Betracht zu ziehen». Dieselbe könnten wir auch nur durch Bestimmung der Aetherschwefelsäuren im Harn erhalten. Selbstverständlich kann die Fäulniss nur dás angreifen, was nicht resorbirt ist, es kann aber viel gespalten werden, was auch alsbald zur Resorption gelangt.

Ich gehe über zur Schilderung meiner Versuche und der angewandten Methoden.

Das Versuchsobject, eine ca. 10 Kg. schwere Hündin, stand unter denselben Bedingungen, wie das frühere Thier.

Die Nahrung bestand ausschliesslich in rohem Pferdefleisch, das ihr, von Sehnen und Fett befreit, in Stücken geschnitten ohne Wasser gereicht wurde.

Der Gang der Untersuchung war folgender:

I. Nach einigen Vorversuchen zur Erzielung eines constanten Körpergewichtes begann die Serie I mit Ernährung des Thieres mit 600 gr. Fleisch, das täglich Morgens 8 Uhr gereicht wurde. Der Versuchstag dauerte von 8 Uhr früh des einen Tages bis 8 Uhr früh des nächstfolgenden. Die Serie dauerte 10 Tage.

II. Vom 11. Tage ab wurde dem Thier die Nahrung so gereicht, dass die 600 gr. Fleisch auf 4 Mal pro die in gleichen

---

[1]) Wien. klin. Wochenschrift 1890, S. 176.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. 18, S. 167, 1893.

Portionen gereicht wurde, so dass es also Morgens 8 Uhr und 12, Mittags 4 und 8 Uhr je 150 gr. erhielt. Die Uebergangsperiode, zu 4 Tagen berechnet, wurde auch berücksichtigt (IIa). Die eigentliche Serie (IIb) dauerte 10 Tage. Im Uebrigen wurde verfahren wie in Serie I.

III. Eine dritte Serie stellte die gleichen Verhältnisse wie bei I wieder her. Uebergangsperiode zu 4 Tagen berechnet (IIIa); im Uebrigen weitere 10 Tage (IIIb).

Das Körpergewicht des Versuchsthieres wurde alle 1—3 Tage Morgens früh bezw. vor der ersten Nahrungsaufnahme auf einer Decimalwaage bestimmt.

Die 24stündige Harnmenge wurde aus dem mit Glasplatten ausgelegten Kasten, in dem das Thier sich befand, in einem Glase aufgefangen und geprüft auf:

1. Ihren Gehalt an Stickstoff nach Kjeldahl.

2. Die Menge der innerhalb 24 Stunden ausgeschiedenen Aetherschwefelsäure nach Baumann:

In 50 cbcm. Harn wurde die nicht gepaarte Schwefelsäure durch Chlorbaryum gefällt. Im Filtrat wurde ein Theil der Aetherschwefelsäuren durch Versetzen mit Salzsäure und 24stündiges Stehenlassen in der Kälte gefällt (B,). Das Filtrat wurde alsdann auf dem Wasserbade erhitzt, wodurch der Rest der gepaarten Schwefelsäure gefällt wurde (B,,). In beiden Fällen wurde das gefällte schwefelsaure Baryum im Platintigel geglüht und gewogen. Ihre Summe (B, + B,,) stellt das Baumann'sche B vor.

3. Den Gehalt an Indoxylschwefelsäure im täglich entleerten Harn nach der Methode von Obermayer:

50 cbcm. Harn wurden mit Bleiacetat (1:5) ausgefällt, das Filtrat mit dem gleichen Volumen rauchender Salzsäure, welche 0,4 % Eisenchlorid enthielt, versetzt und tüchtig umgeschüttelt. Das gebildete Indigo wurde dann mit einer Normallösung verglichen. Dieselbe wurde hergestellt mit einem Präparate von Trommsdorff, das auf seine Reinheit geprüft war. Ihr Gehalt an Indigo wurde an einem Theil der Lösung durch Verdampfen des Chloroforms und Wägung des Rückstandes ermittelt. Zum Vergleich der aus dem Harn gewonnenen Indigolösung mit der Normallösung wurden Beide in zwei mit planparallelen Wandungen versehene Glasgefässe von genau gleicher Dicke

gefüllt. Die Harnindigolösung wurde dann solange verdünnt, bis sie dieselbe Farbennüance wie die Normallösung zeigte und so ihr Gehalt an Indigo festgestellt.

Der Koth wurde durch 3,5 gr. gereinigte und bei 110° getrocknete Thierkohle abgegrenzt und zwar diese Menge zu Beginn und zum Schluss jeder Serie und Uebergangsperiode, also im Ganzen 6 Mal gereicht. Das Gewicht der Kohle wurde jedesmal vom frischen und getrockneten Kothe in Abzug gebracht. 2—3 Proben in Staniol eingewickelten frischen Kothes wurden auf ihren Stickstoffgehalt untersucht und aus ihnen das Mittel genommen. Der Rest des Kothes wurde auf seinen Wassergehalt untersucht, daraus der Wassergehalt und Stickstoffgehalt der auf jede der 5 Perioden entfallenden Kothmenge berechnet.

Zur Stickstoffbestimmung im Harn und Koth wurden 5 cbcm. des gleichmässig gemischten Tagesharnes, bezw. 2—4 gr. frischen Kothes mit 25 cbcm. einer Mischung von concentrirter Schwefelsäure und Phosphorsäure-Anhydrid nebst 0,2 gr. Quecksilberoxyd in besonderen Rundkolben aus hartem Glas solange erhitzt, bis die Flüssigkeit farblos bezw. beim Kothe milchweiss war. Nach Erkalten wurde sie in einen grösseren Kolben gespült, mit so viel Natronlauge von 1,25 spec. Gew, versetzt, dass die Reaction noch deutlich sauer war. Nach dem Erkalten wurde weiter Lauge zugefügt bis zur deutlich alkalischen Reaction, ausserdem, um etwa gebildetes Quecksilberamid zu zerlegen, ca. 12 cbcm. einer Schwefelkaliumlösung hinzugegeben und dann destillirt. Das Destillat wurde in einer abgemessenen Menge von $^1/_{10}$ Normalschwefelsäure aufgefangen. Nach beendigter Destillation wurde der nicht neutralisirte Rest der Schwefelsäure durch Titration mit $^1/_{10}$ Normalnatronlauge ermittelt und so die in das Destillat übergegangene Menge von Ammoniak festgestellt.

(Hierzu die Tabelle auf Seite 128 und 129.)

Tage.		Datum.	24stünd. Harnmenge.	Spec. Gew. des Harns.	Stickstoff in % im Harn.	Stickstoff in toto im Harn.	Aetherschwefelsä[ure] im Harn als Ba. [...]	
							B,	B
0	0	5. Nov. 93.	—	—	—	—	—	—
1 2	1 2	6. » 7. »	800	1046	4,872	38,9760	0,16240	0,35
3	3	8. »	425	1048	4,300	18,2750	0,09168	0,18
4	4	9. »	380	1048	4,620	17,5560	0,07220	0,18
5	5	10. »	420	1048	4,816	20,2272	0,18064	0,30
6	6	11. »	400	1050	4,928	19,7120	0,05680	0,17
7	7	12. »	230	1052	4,592	10,5616	0,02392	0,074
8	8	13. »	575	1050	4,872	28,0140	0,14145	0,29
9	9	14. »	230	1057	4,984	11,4632	0,03174	0,05
10	10	15. »	555	1050	5,068	28,1274	0,08214	0,291
Mittel p. die . . .			401,5	1049,5	4,792	19,2912	0,084297	0,191
11	1	16. Nov. 93.	355	1052	5,068	17,9914	0,03195	0,059
12	2	17. »	425	1046	4,340	18,4450	0,10880	0,148
13	3	18. »	385	1048	4,780	18,3260	0,08239	0,139
14	4	19. »	385	1050	4,872	18,7572	0,04543	0,160
Mittel p. die . . .			387,5	1049	4,760	18,3799	0,067142	0,127
15	1	20. Nov. 93.	400	1050	4,984	19,9360	0,03680	0,136
16	2	21. »	195	1052	5,040	9,8280	0,03249	0,078
17	3	22. »	585	1050	4,872	28,5012	0,09945	0,204
18	4	23. »	175	1049	4,676	8,1830	0,02135	0,054
19	5	24. »	480	1047	4,396	21,1008	0,04800	0,168
20	6	25. »	310	1050	4,732	14,6692	0,05580	0,159
21	7	26. »	430	1052	4,900	21,0700	0,10234	0,2227
22	8	27. »	430	1052	5,068	21,7924	0,07138	0,2021
23	9	28. »	375	1053	5,096	19,1100	0,01500	0,1830
24	10	29. »	355	1052	4,956	17,5938	0,08520	0,1966
Mittel p. die . . .			373,5	1050,7	4,902	18,1784	0,056781	0,1606
25	1	30. Nov. 93.	570	1050	4,816	27,4512	0,08892	0,2223
26	2	1. Dez. 93.	385	1048	4,928	18,9728	0,14168	0,2371
27	3	2. »	225	1054	4,900	11,0250	0,01755	0,0688
28	4	3. »	425	1050	4,900	20,8250	0,13685	0,3187
Mittel p. die . . .			401,2	1050,5	4,886	19,5685	0,096250	0,2117
29	1	4. Dez. 93.	490	1048	4,760	23,3240	0,03822	0,2146
30	2	5. »	205	1052	4,760	9,7580	0,06232	0,0889
31	3	6. »	410	1049	4,732	10,4012	0,11234	0,1508
32	4	7. »	595	1048	4,760	28,3220	0,15732	0,2459
33	5	8. »	225	1052	4,592	10,3320	0,08190	0,0882
34	6	9. »	595	1049	4,648	27,6556	0,16660	0,2808
35	7	10. »	205	1052	4,620	9,4710	0,04487	0,0828
36	8	11. »	610	1050	4,788	29,2068	0,23546	0,3306
37	9	12. »	450	1048	4,777	21,3965	0,09270	0,25290
38	10	13. »	400	1050	4,732	18,9280	0,06880	0,19580
Mittel p. die . . .			418,5	1049,8	4,716	19,77951	0,106053	0,19325

ammt- ther- wefel- ren im Harn B.-B.	Indigo in toto im Harn.	Kothgewicht in gr.		Stickstoff im frischen Koth.	Körpergewicht des Thieres.	Bemerkungen.
		frisch.	trocken.			
—	—	—	—	—	10,550	Unmittelbar vor Beginn der Versuchsreihe Harn und Koth entleert.
1360	—	—	—	—	10,600	
7313	—	—	—	—	—	
5688	—	—	—	—	10,600	
8644	—	—	—	—	—	
3120	—	—	—	—	10,580	
9890	—	—	—	—	—	
3240	—	—	—	—	10,480	Koth entleert.
8832	—	—	—	—	—	
7407	—	117.00	45,9709	3,6731	10,550	
75494	—	11,70	4,59709	0,36731	—	—
09159	—	—	—	—	—	
5755	—	—	—	—	10,520	Koth entleert.
2153	—	—	—	—	—	
0636	—	59,30	18,3697	1,6479	10,600	
194257	—	14,82	4,5924	0,4119	—	—
17360	0,04320	—	—	—	—	
11049	0,03662	—	—	—	10,550	Koth entleert.
30420	0,09625	—	—	—	10,610	
07560	0,03675	—	—	—	—	
21696	0,12498	—	—	—	—	
21514	0,11160	—	—	—	10,870	
32508	0.16795	—	—	—	10,850	Koth entleert.
27348	0,15480	—	—	—	—	
19800	0,14850	—	—	—	10,920	
28187	0,13419	114,00	48,8953	3,3588	—	
217442	0,105484	11,40	4,88953	0 33588	—	—
31122	0,08037	—	—	—	10,880	
37884	0,17556	—	—	—	—	Koth entleert.
08640	0,02835	—	—	—	—	
45560	0,11730	39,32	19,5182	1,3097	10,900	
308015	0,10039	9,83	4,8795	0,32743	—	—
25284	0,13230	—	—	—	10,850	
15129	0,02337	—	—	—	—	
26322	0,13776	—	—	—	10,870	
40326	0,22848	—	—	—	10,850	Koth entleert.
17010	0,05063	—	—	—	—	
44744	0,22848	—	—	—	10,870	
12769	0,04797	—	—	—	—	
56608	0,28548	—	—	—	10,850	Koth entleert.
34560	0,18900	—	—	—	—	
26560	0,10080	122,82	49,3745	4,1737	10,820	
299312	0,142427	12,28	4,93745	0,41737	—	—

Betrachten wir nun an der Hand dieser Zahlen die Ergebnisse der Untersuchung, und zwar:

1. Die Harnmenge und das spec. Gew.
2. Die Gesammtstickstoffausscheidung des Harnes.
3. Das Körpergewicht.
4. Den Koth.
5. Die Aetherschwefelsäuren des Harnes.
6. Das Indican des Harnes.

1. Die Harnmenge und das specifische Gewicht des Harnes zeigen das charakteristische Verhalten:

Serie.	Harnmenge. Mittel p. die.	Spec. Gew. Mittel p. die.
I . . .	401,50	1049,5
IIa . .	387,50	1049
IIb . .	373,50	1050.7
IIIa . .	401,25	1050,5
IIIb . .	418,50	1049.8

Mit steigender Harnmenge sinkendes specifisches Gewicht und umgekehrt. Bei fractionirter Nahrung sinkt entsprechend der Zunahme des Körpergewichtes die Harnmenge und steigt das specifische Gewicht des Harnes. Bei Wiederherstellung der einmaligen Nahrung steigt, entsprechend der Körpergewichtsabnahme, die Harnmenge zunächst auf die bei Serie I gefundene Zahl, um im weiteren Verlauf noch höher zu steigen. Umgekehrte Schwankungen weist dabei das specifische Gewicht auf.

2. Die Gesammtstickstoffausscheidung des Harnes zeigt entgegen meinen früheren Angaben bei fractionirter Nahrung keine Vermehrung, wohl aber ist eine procentische Vermehrung des Stickstoffs vorhanden. Absolut jede Fehlerquelle zu vermeiden, gelang mir auch diesmal nicht; immerhin gelang es mir, gröbere Fehler zu vermeiden, und eine Bilanz aufzustellen, deren Deficit im Einklang steht mit der Zunahme und Abnahme des Körpergewichtes, Ansatz

und Einschmelzung von, sagen wir Eiweiss am Körper, Abnahme und Zunahme der Gesammtstickstoffausscheidung durch den Harn. Folgende Tabelle möge entscheiden:

Serie.	Procentische Ausscheidung an Stickstoff Mittel p. die.	Einnahme an Stickstoff in toto.	Ausgaben an Stickstoff (Harn und Koth) in toto.	Deficit.	Verhalten des Körpergewichtes.
I .	4,792	204,00	196,5856	7,4144	—
IIa .	4,760	81,60	75,1675	6,4325	Zunahme um 370 gr.
IIb .	4,902	204,00	185,1432	18,8568	
IIIa .	4,886	81,60	79,5837	2,0163	Abnahme um 100 gr.
IIIb .	4,716	204,00	201,9688	2,0312	

Das Deficit erscheint also um so grösser, je mehr das Thier angesetzt, um so kleiner, je mehr es von seinem Körperbestand eingeschmolzen hat.

3. Bezüglich des Körpergewichtes kann ich meine früher gemachten Angaben bestätigen. Unter dem Einflusse der fractionirten Nahrung zeigt dasselbe, das bis dahin, und auch im Vorversuche eine ziemliche Constanz gezeigt hat, eine allmälige Steigerung um 370 gr., also dieselbe Zunahme ungefähr, wie bei meinem früheren Versuchsthier, nur dass dieselbe etwas später eintritt. Nach Wiederherstellung der früheren Verhältnisse, einmalige Nahrung, sinkt das Körpergewicht wieder in Serie III um 100 gr., aber auch hier wieder wesentlich langsamer als im früheren Falle, Thatsachen, die mit der Individualität des einzelnen Thieres erklärt sein mögen.

4. Wichtig und zugleich interessant für die Beurtheilung der Frage war die Untersuchung des Kothes. Derselbe konnte glücklicherweise immer frisch in Arbeit genommen werden und wurde, wie erwähnt, in diesem Zustande auf seinen Stickstoffgehalt untersucht, von dem Gedanken geleitet, dass möglicherweise beim Trocknen des Kothes eine mehr oder weniger grosse Menge des Stickstoffs in Form von Ammoniak verloren gehe. Einzelne von mir an trockenem Kothe ausgeführte Parallelbestimmungen, wie ich hier beiläufig er-

wähnen will, sprechen übrigens für die Richtigkeit dieser Annahme.

Datum.	Tage.	Koth frisch in gr.	Koth trocken in gr.	Stickstoff im frischen Koth in toto.	Stickstoff in 100 gr. frischem Koth.	Stickstoff in 100 gr. trockenem Koth.	Procentualischer Wassergehalt des frischen Kothes.
13. Nov. 93.	—	64.50	23,4750	2,03151	3,13413	8,65	63,605
17. »	—	52,50	22,4959	1.64163	3,12693	7,29	57,151
Summa . .	10	117,00	45.9709	3,6731	—	—	—
Pro die		11,70	4,5970	0,3673	—	—	—
17. Nov. 93.	—	35,50	7.5996	0,80522	2,26820	10,59	78,593
21. »	—	23,80	10,7701	0,84273	3.54090	7,82	50,546
Summa . .	4	59,30	18,3697	1.6479	—	—	—
Pro die		14,82	4,5924	0,4117	—	—	—
21. Nov. 93.	—	23,00	5,9423	0,63595	2,76460	10,70	74,164
26. »	—	42,10	17,6258	1,13244	2,68988	6,42	58,133
1. Dez. 93.	—	49,50	21,8272	1,59041	3,21295	7,28	48,834
Summa . .	10	114,60	45,3953	3,3588	—	—	—
Pro die		11,46	4,5395	0,3358	—	—	—
1. Dez. 93.	—	5,4709	1,9148	0,17433	3,18664	8,63	65,000
7. »	—	33,85	17,6034	1,13540	3,36898	6,45	47,996
Summa . .	4	39,32	19,5182	1,30973	—	—	—
Pro die		9,83	4,8795	0,32743	—	—	—
7. Dez. 93.	—	6,4601	3,2775	0,23946	3,70688	7,31	49,389
11. »	—	54,90	24,9822	2,08559	3,79888	8.35	54,495
14. »	—	61,46	21,1148	1,84865	3,00785	8,75	65,645
Summa . .	10	122,82	49,3745	4,17370	—	—	—
Pro die		12,28	4,9375	0,4173	—	—	—

Wenig Werth ist zu legen auf die Menge des täglich entleerten frischen Kothes, da dieselbe zunächst abhängig ist von ihrem — übrigens sehr schwankenden — Wassergehalt, dagegen sind die Werthe des Trockenkothes p. die und auch der Stickstoffgehalt desselben bei einmaliger und fractionirter Nahrungsaufnahme gleich.

Hier zeigt sich also ein scharfer Unterschied gegenüber den Versuchen Weiske's[1]) am Pflanzenfresser, der eben nur die Voit-Rubner'sche Ausnützung im Auge hatte.

Seine Experimente beziehen sich auf den Hammel und das Kaninchen. Aus der Analyse der Nahrung (Heu und Hafer beim Hammel, Hafer allein beim Kaninchen) und des Kothes ergab sich, dass die Ausnützung ein und derselben N hrung bei Verabreichung derselben in vier Portionen be- lich der Eiweissstoffe und des Fettes eine bessere war als Aufnahme in einer Portion, wogegen sich bezüglich der llose und der stickstofffreien Extractivstoffe ein gleicher ss nicht bemerkbar machte.

Ganz anders beim Fleischfresser. Wenn einem Hunde eine nicht übermässige Quantität täglicher Fleischnahrung gegeben wird, dann nützt er sie, was den Koth anbelangt, völlig aus, gleichgültig, ob er sie auf einmal oder in einzelnen Fractionen erhält. — Ein Hammel oder Kaninchen kann dies nicht, weil die Verarbeitung der Nahrung dieser Thiere der Verdauung grössere Schwierigkeiten bietet.

Die Versuche von Weiske sind an sich interessant und werthvoll, insofern sie die vollständigere Ausnützung der Nahrung von Schafen und Kaninchen durch die Verdauung bei fractionirter Verabreichung beweisen; für die von mir untersuchten Verhältnisse geben sie keine verwendbare Grundlage, gestatten überhaupt keine directe Vergleichung, weil bei diesen Thieren eben nur die Kothausscheidungen, nicht die Spaltungen im Darme, Resorption etc. untersucht sind.

Aus den geschilderten Befunden ist zu erkennen, dass die gefundene Körpergewichtszunahme unter dem Einflusse der fractionirten Nahrung nicht zu erklären ist durch einfache bessere Resorption im eigentlichen Sinne des Wortes. Wir werden uns also nach anderen Quellen umsehen müssen. In dieser Beziehung verdient eine nicht geringe Beachtung

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. 18, S. 109. 1893.

5. Das Verhalten der Aetherschwefelsäuren im Harn. Ein Blick auf folgende Tabelle mag uns näher Aufschluss geben:

Aetherschwefelsäuren des Harnes als $BaSO_4$, je 10 Tage. Mittel p. die.			Verhältniss der absoluten Mengen der Aetherschwefelsäuren bei einmaliger und fractionirter Nahrung.
Serie I.	Serie IIb.	Serie IIIb.	
0,275494	0,217442	0,299312	1,32 : 1
Mittel von Ser. I u. IIIb	0,287403	—	

d. h. es wurde bei einmaliger Nahrung im Mittel p. die 1,32 Mal so viel Aetherschwefelsäuren ausgeschieden als bei fractionirter, dementsprechend war die Darmfäulniss in letzterem Falle vermindert.

Ich habe ferner auf die Aufforderung von Herrn Prof. Hoppe-Seyler eine Unterscheidung von B, und B„ als einen Versuch gemacht, von der Gesammtätherschwefelsäure die leichter spaltbaren von den schwerer spaltbaren getrennt zu erhalten. Wie ich dabei verfuhr, habe ich oben schon hervorgehoben.

Serie.	Aetherschwefelsäuren des Harnes als $BaSO_4$ Mittel p. die.			Das Verhältniss B, : B„.
	B,	B„	B = B, + B„	
I	0,084297	0,191197	0,275494	1 : 2,26
IIa	0,067142	0,127115	0,194257	1 : 1,89
IIb	0,056781	0,160661	0,217442	1 : 2,81
IIIa	0,096250	0,211765	0,308015	1 : 2,20
IIIb	0.106053	0,193259	0,299312	1 : 1,82

Dieser Versuch ist insofern von Interesse, als sich eine ziemlich constante Proportion B, : B„ ergibt. Als leichter spaltbar sind Indoxyl- und Skatoxylschwefelsäure bekannt, auch Hydroparakumarsäure und Paraoxyphenylessigsäure können hierher gehören, während zu B„ sicher Phenol- und Kresolschwefelsäure gehören.

Suchen wir uns zunächst über die Bedeutung der Vermehrung der Gesammtätherschwefelsäure bei einmaliger, der Verminderung bei fractionirter Ernährung klar zu werden.

Um die Körpergewichtszunahme des Thieres unter dem Einflusse der fractionirten Ernährung zu erklären, müssen wir uns vergegenwärtigen, dass ein solcher Zustand nur durch Zurückhaltung von Stickstoff in ihm zur Bildung von Protoplasma zu Stande kommen kann. Ein solcher Stickstoffansatz ist wirklich vorhanden, wie aus der Bilanz ersichtlich ist. — Wie aber sich den unter diesen Verhältnissen eintretenden Stickstoffansatz erklären, da doch die Nahrung im Ganzen genommen täglich dieselbe ist, wie bei der einmaligen Nahrung?

Offenbar kann dieser Ansatz am Körper nicht anders eintreten als durch eine geringere Spaltung der Eiweissstoffe und Nichtverwandlung derselben durch Fäulniss in solche Producte, deren Stickstoff beim Durchgang durch den Organismus wohl immerhin als Harnstoff im Harne erscheinen wird, die aber für den Organismus von ganz anderer und zwar viel geringerer Bedeutung und in ihrem Nährwerth nicht höher zu stellen sind als Leim, Producte also, die die normalen Verdauungsproducte vollwerthig zu ersetzen nicht im Stande sind.

Wenn wir uns nun fragen, wie es kommt, dass unter dem Einfluss der getheilten Nahrung die Eiweissstoffe einer geringeren Spaltung und geringeren Fäulniss unterliegen als bei einmaliger, so ist es ein Factor, der hier in erster Linie massgebend ist: die mehr oder weniger beschleunigte Resorption. Bei schneller Resorption werden die Fäulnissproducte gering sein; bei langsamer Resorption, d. h. längerem Verweilen der letzten Spaltungsproducte des Eiweiss im Darm tritt eine stärkere Fäulnisswirkung auf. Die vorliegenden Zahlen sprechen unzweifelhaft dafür, dass die Fäulnissproducte bei der einmaligen Nahrung vermehrt, bei der fractionirten dagegen, als Folge der schneller vor sich gehenden Resorption, vermindert sind. Es ist klar, dass wir die Intensität der Spaltung des Eiweiss im Darm nicht bemessen können nach diesen Fäulnissproducten, da ihre Menge abhängig ist von der Dauer des Verweilens des Spaltungsproductes im Darm. Die Fäulniss kann nur das angreifen, was nicht resorbirt ist; es kann aber viel gespalten werden, was auch alsbald zur Resorption gelangt; desshalb gewährt auch die Quantität der

Aetherschwefelsäuren im Harne nur relativ einen Einblick in die uns hier interessirenden Vorgänge im Darm.

Ich hob bereits hervor, dass man noch nicht im Stande ist, diejenige Quantität von Eiweiss zu bestimmen, welche der Spaltung und Fäulniss im Darmkanal unterliegt, ebensowenig eine Einsicht besitzt in den Vorgang der Resorption, um feststellen zu können, wie viel Eiweiss als solches in das Blut aufgenommen wird. Geht uns hinsichtlich der Pankreasverdauung jeder Massstab bezüglich der Spaltung der Eiweissstoffe im Darm ab, so haben wir wohl im Harne am Indoxylgehalt einen solchen bezüglich der Zersetzung der Eiweissstoffe im Darme durch Fäulniss. Die Indicanausscheidung betrug im Mittel p. die:

in Serie IIb . . 0,105484 gr.
in Serie IIIb . . 0,142427 »

es sind somit ähnliche Schwankungen wie in der Ausscheidung der Schwefelsäuren nicht zu verkennen.

Fassen wir die Resultate unserer Betrachtungen kurz zusammen, so beruht die Körpergewichtszunahme unter dem Einflusse der fractionirten Nahrungsaufnahme nicht auf besserer Resorption der Eiweissstoffe schlechthin, denn die Ausnützung der Nahrung hinsichtlich dieser Stoffe ist die gleiche wie bei einmaliger Darreichuug, vielmehr darauf, dass eine unter diesen Verhältnissen beschleunigte Resorption des Eiweiss als solchen stattfindet, welche die Entstehung und das Auftreten von solchen Spaltungs- und Fäulnissproducten im Darm hintenanhält, die nach ihrer Resorption für den thierischen Organismus nicht wieder regenerationsfähig also minderwerthig sind.

Physiologisch-chemisches Institut zu Strassburg,
December 1893.

Es erübrigt mir noch der Ausdruck des tiefempfundenen Dankes für die Anregung und wohlwollende Unterstützung, deren ich mich Seitens meines hochverehrten Lehrers, Herrn Prof. Dr. Hoppe-Seyler, auch bei dieser Arbeit zu erfreuen hatte.

Lävulose bei Diabetikern.
(Ihre theilweise Umwandlung in Glucose.)

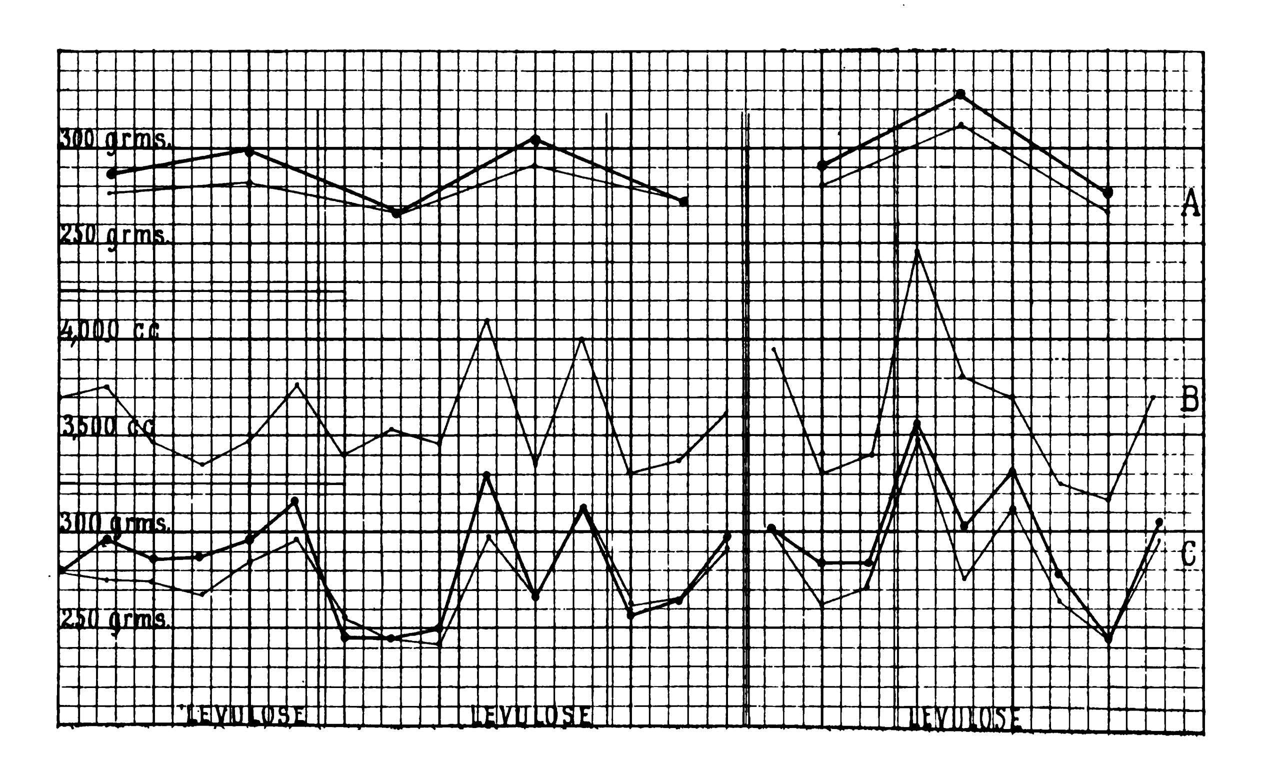
Von

John Berry Haycraft,
Professor der Physiologie am University College Cardiff.

(Der Redaction zugegangen am 9. Januar 1894.)

Die Arbeit von Külz, sowie die Vorlesungen von Bunge und Sanndby gaben mir die Anregung zu Versuchen an Diabetikern mit Lävulose, die ich mir in grosser Menge dargestellt hatte. Die Patienten wurden in einer gleichmässigen Diät gehalten, bei der die Kohlenhydrate möglichst ausgeschlossen waren. In abwechselnden Perioden von je drei Tagen erhielten sie 55 gr. Lävulose pro die, in sechs Dosen. Die Menge des ausgeschiedenen Zuckers wurde sowohl mittelst Fehling'scher Lösung, deren Titer auf wasserfreie Glucose eingestellt war, als auch durch Circumpolarisation mittelst eines Saccharimeters aus der Fabrik von Schmidt und Haensch festgestellt. Derselbe gab als specifische Rotation der Glucose $+ 53^{0}$ C. und für Lävulose, die aus Invertzucker gewonnen war, bei 16^{0} C. $= - 89^{0}$ an.

Fall I. Es handelt sich um einen jungen Mann mit den typischen Erscheinungen der acuten Krankheit. Zum Verständniss der bei ihm erhaltenen Resultate siehe Tafel I. Bei A ist die in je einem Zeitraum von drei Tagen ausgeschiedene Menge des Zuckers, dividirt durch drei, angegeben. Die dunkle Curve gibt die Bestimmungen mit Fehling'scher


300 grms.
250 grms.
4,000 c.c.
3,500 c.c.
300 grms.
250 grms.
A
B
C
LEVULOSE
LEVULOSE
LEVULOSE

Lösung an, die hellere, die mit dem Polarimeter. Man sieht nun, dass jedesmal nach Eingabe von Lävulose die Gesammtmenge des Zuckers vermehrt ist. Dabei sind die durch Circumpolarisation gefundenen Werthe relativ geringer, was zum Beweise dient, dass auch etwas Lävulose ausgeschieden ist. Die gefundenen Zahlenwerthe sind in folgender Tabelle zusammengestellt.

Mengen des ausgeschiedenen Zuckers in einem Zeitraum von je drei Tagen, in denen keine Lävulose gegeben wurde.		Mengen des ausgeschiedenen Zuckers in einem Zeitraum ven drei Tagen, in denen Lävulose gegeben wurde.	
Durch Circularpolarisation gefunden.	Durch Titration mit Fehling'scher Lösung gefunden.	Durch Circularpolarisation gefunden.	Durch Titration mit Fehling'scher Lösung gefunden.
836	869	849	899
739	736	879	911
819	820	938	991
843	874	—	—
802	827	—	—
4039	4126	2667	2801
Durchschnitt: 807	825	888	933

Um die totale Zunahme der Zuckerausscheidung und das Verhältniss der Lävulose zur Glucose festzustellen, kann man folgendermaassen verfahren. Wenn keine Lävulose gegeben wurde, wurde eine Ausscheidung von 807 gr. Zucker durch Circumpolarisation ermittelt, während die Titrirung mit Fehling'scher Lösung eine höhere Zahl, nämlich 825, ergab, was offenbar auf Rechnung anderer reducirender Substanzen zu setzen ist. Mit anderen Worten, wir müssen 825, den durch Fehling'sche Lösung angegebenen Betrag um 18 vermindern, um die während der lävulosefreien Zeit ausgeschiedene Menge des Zuckers zu erhalten. In diesem Verhältniss ($825 : 18 = 933 : x$) findet man 20 als diejenige Zahl, um die 933 vermindert werden muss. Man findet so 913 als die während der Zeit, in der Lävulose gereicht wurde, ausgeschiedene Menge von Zucker. Es ergibt sich so eine Gesammtvermehrung um 106 gr. Zur Auffindung des Verhältnisses zwischen Lävulose und Glucose in diesen 106 gr. dient folgende Formel.

Es sei α der Drehungswinkel einer 1 proc. Lösung von Dextrose, β der Drehungswinkel einer 1 proc. Lösung von Lävulose. Ferner bezeichne x und y die unbekannten Procentgehalte einer jeden von ihnen in einer Lösung, deren Gesammtdrehung gleich A ist. Schliesslich sei x + y, der durch Titrirung mit Fehling ermittelte Procentgehalt des Gesammtzuckers gleich B.

$$\alpha = +53$$
$$\beta = -89$$
$$A = 888 \cdot 53$$
$$B = 913$$

$$\alpha x + \beta y = A$$
$$x = \frac{A - \beta B}{\alpha - \beta}$$
$$y = \frac{\alpha B - A}{\alpha - \beta}$$

Lävulose berechnet	9 gr.
Dextrose »	97 »
Gesammtzucker	106 gr.

Man erinnere sich, dass der Patient während der drei Tage 165 gr. Lävulose erhielt. Ihre Verarbeitung im Organismus geschah in folgender Weise:

Wieder ausgeschiedene Lävulose .	9 gr.	= 5 %.
Als Glucose ausgeschieden	97 »	= 59 %.
Zurückbehalten im Organismus . .	59 »	= 37 %.

Diese Resultate wurden bestätigt in einem zweiten Fall von acutem Diabetes.

Der III. Fall betraf einen chronischen Diabetes eines älteren Individuums. In diesem wurde alle Lävulose zersetzt und es fand keine Vermehrung der ausgeschiedenen Glucose statt.

Demnach scheint es, dass in einigen Fällen von acutem Diabetes, bei beliebigem Grad desselben, die Lävulose auch bei geringeren Dosen als Külz anwandte, theils unverändert ausgeschieden wird, theils durch sie die Menge der ausgeschiedenen Glucose vermehrt wird. Ist Letzteres nun blos

durch die gesteigerte Diurese bedingt oder wird die Lävulose in Glucose umgewandelt? Letztere von beiden Möglichkeiten enthält einige Schwierigkeit in rein chemischer Hinsicht, da sie die Umwandlung eines Ketons in einen Aldehyd involvirt. Gleichwohl muss sie jetzt als möglich für den Organismus betrachtet werden.

Ein Experiment an einem Kaninchen zeigte, dass aus Lävulose Glycogen gebildet werden kann, dessen weitere Umwandlung in Glucose ein ganz natürlicher Vorgang ist. Ich liess ein Kaninchen sechs Tage lang hungern, nach welchem Zeitraum man annehmen kann, dass alles Glycogen verschwunden sei. Darauf wurden ihm 15 gr. Lävulose in 30 cbcm. Wasser gelöst in den Magen injicirt. Vier Stunden später wurde das Thier getödtet. Es wurde eine reichliche Menge von Glycogen in seiner Leber gefunden. Dieser Versuch wurde an 4 Kaninchen wiederholt. Ich liess sie 7 Tage lang hungern. Dann wurden 2 von ihnen (A und A') getödtet. Die beiden Anderen (B und B') erhielten jedes 15 gr. Lävulose und wurden 4 Stunden später getödtet.

	A.	A'.	B.	B'.
Gewicht des Thieres . . .	906	1430	973	1520
Glycogen	Keins.	Spuren.	0,476	0,562

Schlussfolgerungen.

1. Ein Patient mit chronischem Diabetes kann 50 gr. oder mehr Lävulose per diem zersetzen.
2. In einigen acuten Fällen wird ein Theil der eingegebenen Lävulose als solche ausgeschieden, ein Theil zersetzt und ein Theil in Glucose verwandelt.
3. Kaninchen machen aus Lävulose Glycogen, das in der Leber aufgespeichert wird.

Ich habe somit dasselbe gefunden, was schon C. Voit gezeigt hat, nämlich dass Lävulose in Glycogen umgewandelt werden kann.

Zu Tafel I.

Fall I. A zeigt die Zuckerausscheidung während der Periode von drei Tagen. Die Menge der Ausscheidung für die drei Tage ist durch drei dividirt. Die dunkle Curve bezeichnet die mit Fehling'scher Lösung, die helle die durch Circumpolarisation erhaltenen Werthe. Wo Lävulose gegeben wurde, steigen die Curven an, besonders diejenige der Fehling'schen Lösung.

B zeigt die täglich ausgeschiedene Menge des Urins, und lehrt, dass die Menge des ausgeschiedenen Zuckers nur innerhalb sehr engen Grenzen mit der Menge des Urins schwankt.

C zeigt die Zuckerausscheidung pro Tag, durch Fehlingsche Lösung und Circumpolarisation bestimmt.

Einiges über Fibrin und Fibrinogen.

Von

J. J. Frederikse.

(Aus dem physiologischen Laboratorium der Universität Utrecht.)

(Der Redaction zugegangen am 10. Januar 1894.)

Bekanntlich hat Hammarsten unwiderleglich nachgewiesen, dass aus Fibrinogen mittelst Fibrinferment Fibrin gebildet werden kann, ohne jede Mithilfe von Paraglobulin. Damit war die Unrichtigkeit der Auffassung Alex. Schmidt's, nach welcher Fibrin aus einer Verbindung von fibrinogener und fibrinoplastischer Substanz (Paraglobulin) entstünde, erwiesen.

Dennoch hält Schmidt noch immer seine Meinung eines genetischen Zusammenhanges von Fibrin und Paraglobulin fest. «Vor allen Dingen», sagt er, «gilt noch jetzt der Satz: Ohne Paraglobulin kein Faserstoff»[1]), wenn auch seine Anschauung über die von dem Paraglobulin bei der Gerinnung gespielte Rolle eine andere ist wie früher.

Das Hauptargument, mit dem Schmidt seine Meinung begründet, ist sein Befund, dass aus einer gerinnungsfähigen Flüssigkeit desto mehr Fibrin ausgeschieden wird, je mehr Paraglobulin sie enthält. «Von der Thatsache, dass das Gewicht des Faserstoffes in gradem Verhältniss mit dem Gehalt der betreffenden Flüssigkeit an Paraglobulin wächst», so spricht er, «lässt sich nun einmal nichts abstreifen»[2]).

---

[1]) Zur Blutlehre, Leipzig 1892, S. 194.

[2]) L. c., S. 192.

Diese Behauptung kann aber nur dann von entscheidendem Werth geachtet werden, wenn es sicher ist, dass in Schmidt's Versuchen das Gewicht des Faserstoffes fehlerfrei bestimmt werde. Und das ist nicht der Fall.

Die Bestimmung der aus Gerinnungsflüssigkeiten mit oder ohne Paraglobulinzusatz enthaltenen Fibrinmenge machte Schmidt in folgender Weise[1]):

Nach dem Ablauf der Gerinnung wurde das Fibrin, durch Umrühren mit einem Glasstab, zum Zusammenziehen gebracht, auf gewogenen aschefreien Filtern filtrirt, mit Wasser gewaschen «bis zur völligen Beseitigung aller gelösten Bestandtheile der Flüssigkeit», mit Alkohol und Aether extrahirt, getrocknet und gewogen.

Diese Methode leidet, wie Hammarsten bemerkt hat[2]), an wichtigen Fehlerquellen. Wird, nach dem Ablauf der Gerinnung das Fibrin mit einem Glasstab umgerührt, so tritt zwar gewöhnlich eine starke Contraction der Gallerte ein, aber dennoch bleibt die Gallerte ziemlich weich, und sicher äusserst schwierig durch Auswaschen mit Wasser von den wasserlöslichen Beimengungen zu befreien. Wenn es aber Schmidt auch gelungen sein dürfte, aus dem Faserstoff alle in Wasser löslichen Salze zu entfernen, so blieb das Fibrin doch sicher mit dem in Wasser unlöslichen Paraglobulin verunreinigt. Zur Beseitigung des Paraglobulins sollte mit Salzlösung ausgewaschen sein. Es war desshalb im Voraus zu erwarten, dass Schmidt das Gewicht seiner Gerinnsel grösser finden müsste, je nachdem er der Flüssigkeit mehr Paraglobulin zugesetzt hatte, eben weil auch aus der paraglobulinreicheren Mischung mehr von dieser Substanz in das Gerinnsel eingeschlossen wurde.

Hammarsten begnügte sich denn auch nicht mit der spontanen Zusammenziehung des Fibrins, sondern machte das Auswaschen des Faserstoffs unter anhaltendem kräftigem Kneten mit einer Spatel[3]).

---

[1]) Pflüger's Archiv, Bd. XI, S. 321.
[2]) Nova Acta Reg. Soc. Ups., Ser. III, Vol. X, S. 125.
[3]) Nova Acta, S. 59.

Später verwendete er noch mehr Sorgfalt auf die Fibrinbestimmungen[1]).

Durch Umrühren während der Gerinnung wurde die Ausscheidung des Fibrins in Fäden möglichst gefördert. Wenn dennoch grössere Gallertklumpen entstanden, wurden dieselben mittelst einer Platinspatel fein zerschnitten, auf ein feines Kupferdrahtnetz gebracht und dann unter anhaltendem Kneten ausgewaschen, erst mit verdünnter Kochsalzlösung und dann mit Wasser.

Bei Anwendung der letztgenannten Methode erhielt Hammarsten Resultate, welche gar nicht für eine Vermehrung der Fibrinausscheidung unter dem Einfluss des Paraglobulins sprechen, in Versuchen, welche zwar nicht angestellt wurden, in der Absicht, diesen Einfluss zu prüfen, aber doch geeignet waren, eine etwaige Bedeutung des Paraglobulins ans Licht treten zu lassen. Während er früher, als das Auswaschen noch nicht mit dieser peinlichen Sorgfalt stattfand, aus gleichen Fibrinogenmengen einmal 0,413 gr. Fibrin erhielt nach Zusatz von 0.450 gr. Paraglobulin, gegen 0,372 gr. Fibrin aus der paraglobulinfreien Flüssigkeit, und ein anderes Mal 0,561 gr. Faserstoff aus der paraglobulinhaltigen und 0,550 gr. aus der paraglobulinfreien[2]), wurden jetzt folgende Resultate erhalten:

20 cbcm. Fibrinogenlösung lieferten, nach Vermischung mit:

20 cbcm. Serum	a) 0.201 gr. Fibrin.
	b) 0,200 » »
20 » paraglobulinfreier Fermentlösung	. 0,204 » »

und

20 cbcm. Fibrinogenlösung lieferten, nach Vermischung mit:

20 cbcm. Serum	a) 0,221 gr. Fibrin.
	b) 0,230 » »
20 » paraglobulinfreier Fermentlösung	. 0,227 » »[3])

Hier ist von irgend einem Einfluss des im Serum enthaltenen Paraglobulins auf das Faserstoffgewicht nichts zu bemerken.

Gegen die Beweiskraft dieser Versuche könnte aber eingewendet werden, dass die dabei in Wirkung kommenden

---

[1]) Pflüger's Archiv, Bd. XXX, S. 461.

[2]) Nova Acta, S. 60.

[3]) Pflüger's Archiv, Bd. XXX, S. 462.

Fermentmengen unbekannt waren. Dieselben sind eben citirt aus einer Versuchsreihe, aus welcher u. A. hervorgeht, dass schwache Fermentlösungen nicht so viel Fibrin bilden wie kräftige. Man könnte die übrigens ziemlich unwahrscheinliche Annahme machen, das Serum wäre eben in diesen Versuchen zufällig arm an Ferment gewesen.

Ich habe durch neue Versuche die Frage zu beantworten versucht, ob man berechtigt ist, mit Schmidt anzunehmen, dass die Ausscheidung des Fibrins aus einer Gerinnungsflüssigkeit wächst in Folge eines Zusatzes von Paraglobulin. Es war dabei unbedingt nothwendig, nicht nur den von Schmidt beim Auswaschen des Fibrins gemachten Fehler möglichst zu vermeiden, sondern auch dafür Sorge zu tragen, dass die gebrauchten Fibrinogenlösungen frei waren von Paraglobulin und von Ferment, dass auch die Fermentlösungen kein Paraglobulin enthielten, und dass der Fermentgehalt der mit Paraglobulin versetzten Flüssigkeit niemals kleiner sein konnte als derjenige der paraglobulinfreien Lösung.

Das Fibrinogen wurde nach Hammarsten's Methode aus Rinder- oder Pferdeblut bereitet: das Blut wurde in $^1/_{10}$ Vol. 1 procentiger Kaliumoxalatlösung aufgefangen und centrifugirt; dann wurde das klare Plasma mit gesättigter Kochsalzlösung vermischt. Aus dem Pferdeblutplasma wird das Fibrinogen leichter von Kochsalz gefällt als aus dem Plasma des Rinderblutes. Der Unterschied liegt nicht in der fibrinogenen Substanz selber, sondern in anderen Bestandtheilen des Plasma. Einmal von Plasma getrennt, wird das Fibrinogen ebenso gut von 16% NaCl gefällt, ob es von Rinder- oder Pferdeblut herstammt.

Zum Pferdeblutplasma setzte ich ein gleiches, zum Rinderblut ein doppeltes Volumen gesättigter Kochsalzlösung hinzu.

Die vom Kochsalz getrübte Flüssigkeit wurde etwa eine halbe Stunde centrifugirt. Dann wurde die Flüssigkeit abgegossen und der Niederschlag mittelst des in denselben eingeschlossenen Salzes in destillirtem Wasser gelöst. Diese Lösung enthielt die mechanisch vom Fibrinogen mitgerissenen Verunreinigungen, Paraglobulin, Nucleoalbumin, Farbstoffe u. s. w.

Zur Entfernung dieser Verunreinigungen wurde die Fibrinogenlösung wieder mit dem gleichen Volum Kochsalzlösung gefällt; der Niederschlag wurde nochmals gelöst und gefällt und wieder gelöst, sodass schliesslich eine ganz farblose Fibrinogenlösung erhalten wurde, welche durch Sättigen mit NaCl völlig von Eiweiss befreit wird, und also kein Paraglobulin enthält (Hammarsten) und durch Zusatz von $CaCl_2$ oder $CaSO_4$ nicht gerinnt, also frei ist von Nucleoalbumin (Pekelharing).

Das für meine Versuche gebrauchte Paraglobulin wurde gewöhnlich in folgender Weise bereitet: Aus mit destillirtem Wasser 10fach verdünntem Blutserum wurde das Paraglobulin durch Hindurchleiten von CO_2 gefällt, mittelst Filtriren oder Centrifugiren von der Flüssigkeit getrennt, und in 1% NaCl gelöst. Die Lösung wurde filtrirt und ± 20 Stunden gegenüber Leitungswasser dialysirt. Dann wurde der trübe gewordene Dialysatorinhalt centrifugirt und der Niederschlag in 1% NaCl gelöst. Diese Lösung wurde filtrirt und für den Versuch gebraucht.

Bisweilen, als ich zugleich Ferment nach der Hammarsten'schen Methode bereiten wollte, wurde das Paraglobulin durch Sättigen des Serums mit Magnesiumsulfat bereitet. Das von der salzgesättigten Flüssigkeit abfiltrirte Paraglobulin wurde in destillirtem Wasser gelöst und dialysirt. Der im Dialysator entstandene Niederschlag wurde durch Filtriren oder Centrifugiren von der Flüssigkeit getrennt, in 1% NaCl gelöst und filtrirt. Zum Hervorrufen der Gerinnung wurde oft Ferment, genau nach der von Hammarsten gegebenen Methode bereitet, gebraucht; in anderen Fällen aber wurde Nucleoalbumin aus Blutplasma mit $CaCl_2$ verwendet.

Das Nucleoalbumin wurde nach der von Pekelharing gegebenen Methode[1]) bereitet.

Mit zwei Volum destillirten Wasser verdünntes Oxalatplasma wurde mit Essigsäure versetzt bis zur deutlich sauren Reaction. Nachdem die trübe Flüssigkeit etwa eine Stunde centrifugirt war, hatte der Niederschlag sich so fest am Boden

---

[1]) Untersuchungen über das Fibrinferment. Amsterdam 1892, S. 1.

des Glases abgesetzt, dass die Flüssigkeit davon abgegossen werden konnte. Zur Reinigung wurde der Niederschlag in möglichst wenig Ammoniak gelöst, mit viel Wasser verdünnt und wieder mit Essigsäure gefällt und centrifugirt. Diese Behandlung wurde noch einmal wiederholt. Der so gewonnene Niederschlag wurde auf der Centrifuge mit Wasser gewaschen und dann in vacuo über Schwefelsäure getrocknet. Das trockene Pulver wurde mit 0,7 % Kochsalzlösung extrahirt und filtrirt. Auf diese Weise wurde das Nucleoalbumin völlig von Paraglobulin befreit. Das Paraglobulin verliert nämlich beim Trocknen seine Löslichkeit, während das Nucleoalbumin in verdünnter Kochsalzlösung löslich bleibt. Dass das Nucleoalbumin thatsächlich frei war von Paraglobulin, konnte in folgender Weise nachgewiesen werden. Zur klaren Lösung wurde eine minimale Menge Essigsäure hinzugesetzt, wodurch leichte Opalescenz entstand. Beim Erhitzen auf 65° C. schied sich dann das Nucleoalbumin flockig aus und jetzt konnte in der von der Fällung abfiltrirten Flüssigkeit keine Spur von Eiweiss mehr nachgewiesen werden. Wäre in der Lösung Paraglobulin enthalten gewesen, so wäre dasselbe bei 65° C. gelöst geblieben.

Das Nucleoalbumin wurde erst unmittelbar vor dem Gebrauch mit $CaCl_2$ vermischt.

Nachdem jetzt Fibrinogen, Paraglobulin und Ferment rein bereitet waren, wurde der Versuch angestellt. Die Fibrinogenlösung wurde in 4 gleiche Theile vertheilt. Zu 2 davon wurde, zu jeder eine gleiche Menge, Paraglobulinlösung hinzugesetzt und zu den 2 anderen eine gleiche Menge 1 % NaCl-Lösung. Schliesslich wurde jedes Glas mit einer gleichen Menge Fermentlösung versetzt; dabei kam noch in jedes Glas eine gleiche Menge destillirten Wassers zur Veringerung des Salzgehaltes.

So war der Forderung genügt, dass in dem einen Paar der Gläser das Paraglobulin vorhanden war, während es in dem anderen Paar völlig fehlte.

Da Paraglobulin niemals fermentfrei zu erhalten ist, war der Fermentgehalt in der mit Paraglobulin versehenen Flüssigkeit immer etwas grösser als in der paraglobulinfreien. Diese Ungleichheit hätte vermieden werden können durch vor-

heriges Erhitzen der Paraglobulinlösung auf 65° C., wodurch das Ferment unwirksam gemacht wird. Ich habe das aber unterlassen, weil, wenn durch den Unterschied im Fermentgehalt ein Fehler gemacht wurde, derselbe zu einer Vermehrung der Faserstoffausscheidung aus der mit Paraglobulin versetzten Flüssigkeit führen würde. Fand sich nun eine solche Vermehrung nicht — und so stellte es sich heraus, war thatsächlich der Fall — so wäre dadurch der Beweis, dass das Paraglobulin nicht zur Fibrinbildung beiträgt, noch verstärkt.

Wie oben besprochen, ist es unmöglich, das Fibrin gut auszuwaschen, wenn es sich in gallertigen Klumpen ausgeschieden hat. Zur Förderung einer möglichst vollständigen Zusammenziehung des Fibrins ist es erwünscht, die Flüssigkeit, so lange noch Ausscheidung stattfindet, in Bewegung zu halten. Dazu wurden die Versuche folgendermassen eingerichtet:

Sechs Bechergläser wurden in ein grosses Wasserbad gestellt, dessen Temperatur während des ganzen Versuchs auf 37° C. gehalten wurde. Jedes Glas war, zur Beschützung gegen einfallenden Staub, mit einer in der Mitte durchbohrten Glasplatte lose bedeckt. Durch die Oeffnung der Glasplatte kam ein Glasstab, welcher auf solche Weise gebogen war, dass Drehung des vertical über der Glaspatte herauskommenden Theiles um seine eigene Axe, die Flüssigkeit im Glas sowohl an der Peripherie als in der Mitte in Bewegung brachte. Die verticalen, oberen Enden der Stäbchen konnten mittelst eines eigens dazu construirten Apparates in gleichmässig drehende Bewegung gebracht werden. Der Apparat wurde von einem fallenden Gewicht getrieben und konnte, wenn nöthig, Tag und Nacht über, in fortwährender Bewegung gehalten werden. Die Drehungsgeschwindigkeit, welche mittelst eines Windflügels regulirt werden konnte, war in den meisten Versuchen so, dass jedes Rührstäbchen etwa 6 Mal in der Minute im Becherglas herumdrehte.

Wenn nun die Bechergläser mit einer gerinnungsfähigen Flüssigkeit gefüllt waren, setzte sich das allmälig gebildete Fibrin fest an die herumdrehenden Stäbchen ab. Es kam vor, dass in dem oberen Theil der Flüssigkeit ein wenig Fibrin sich

an die Wand des Glases absetzte und nicht von dem Stäbchen mitgenommen wurde. Dann war es aber leicht, mit der Hand die Stäbchen so zu bewegen, dass auch diese Fibrinflöckchen daran hafteten und bei weiterem Herumdrehen bald fest mit dem übrigen Faserstoffklumpen verschmolzen. Wären vielleicht noch einzelne Fibrinflöckchen schwebend geblieben, oder fand (was übrigens nur in einem meiner Versuche der Fall war) nachdem die Stäbchen aus den Gläsern herausgenommen waren, noch einige Fibrinausscheidung statt, so wurde die Flüssigkeit durch ein gewogenes Filter filtrirt. Diese sehr winzige Fibrinmenge konnte ohne Schwierigkeit auf dem Filter ausgewaschen werden.

Ein einziges Mal kam es vor, dass die Gerinnung unmittelbar nach dem Fermentzusatz stattfand und der Faserstoff eine Gallertmasse bildete, welche auch nach langem Umrühren keine genügende Festigkeit erhielt und in Folge dessen nicht gut ausgewaschen werden konnte.

Nach dem Ablauf der Gerinnung wurden die Glasstäbchen mit dem Fibrin in neue Gläser mit 1% Kochsalzlösung gebracht zur Lösung und Entfernung des mechanisch mitgerissenen Paraglobulin und Nucleoalbumin. Das Fibrin wurde so viel wie möglich durch Drücken der Stäbchen gegen die Wand des Glases ausgepresst. Aus der Kochsalzlösung kamen die Stäbchen in destillirtes Wasser, das so oft erneuert wurde, bis das Waschwasser keine Chlorreaction mehr gab. Jetzt wurde der Faserstoff mittelst Glasstäbchen von den Rührstäbchen abgeschoben und auf gewogene Uhrgläser gebracht und bis Gewichtsconstanz bei 110° C. getrocknet.

Diese Methode lieferte sehr befriedigende Resultate. Der Faserstoff war so fest, dass derselbe erstens nur wenig Flüssigkeit einschliessen konnte und zweitens leicht auszuwaschen war. Auch war das Abschieben des Fibrins von den Rührstäbchen leicht und ohne Verlust möglich. Musste die Flüssigkeit, wegen der Anwesenheit einzelner Fibrinflöckchen, filtrirt werden, so wurde auch das um die Stäbchen abgesetzte Fibrin, nach vorherigem Waschen in der gewöhnlichen Weise auf das Filter, statt auf ein Uhrglas gebracht. In diesen Fällen

übergoss ich das Filter mit Fibrin, nachdem es getrocknet und gewogen worden war, mit kochendem Wasser, und fand dann keinen Gewichtsverlust, ein Beweis also, dass wenigstens die in Wasser löslichen Salze gut ausgewaschen waren.

Das Gewicht des zugesetzten Paraglobulins wurde bestimmt durch Wägung des Trockenrückstandes und der Asche eines gemessenen Theils der für den Versuch gebrauchten Lösung. Die gewonnenen Resultate lasse ich hier folgen:

	Zusammensetzung der Flüssigkeit.	Paraglobulin-Zusatz (aschefrei).	Zeitverlauf zwischen dem Mischen der Flüssigkeit und dem Herausnehmen des Fibrins.	Erhaltenes Fibrin.
I.	18 cbcm. Fibrinogenlösung . . . . 25 » 1 % Na Cl-Lösung . . . . 5 » Nucleoalbuminlösung . . 2 » 1 % $CaCl_2$-Lösung . . . 48 » Aq, destill.	0,000 gr.	5 Stunden	a) 0,079 gr. b) 0,0825 »
II.	18 » Fibrinogenlösung . . . . 25 » Paraglobulinlösung . . . 5 » Nucleoalbuminlösung . . 2 » 1 % $CaCl_2$-Lösung . . . 48 » Aq. destill.	0,373 »	5 »	a) 0,082 » b) 0.0825 »
I.	26 cbcm. Fibrinogenlösung . . . . 20 » 1 % Na Cl-Lösung . . . . 5 » Nucleoalbuminlösung . . 3 » 1 % $CaCl_2$-Lösung . . . 35 » Aq. destill.	0,000 »	$6^1/_4$ »	a) 0,022 » b) 0,0225 »
II.	26 » Fibrinogenlösung . . . . 20 » Paraglobulinlösung . . . 5 » Nucleoalbuminlösung . . 3 » 1 % $CaCl_2$-Lösung . . . 35 » Aq. destill.	0,429 »	$6^1/_4$ »	a) 0,0225 » b) 0,0235 »
I.	24 cbcm. Fibrinogenlösung . . . . 16 » 1 % Na Cl-Lösung . . . . 8 » Nucleoalbuminlösung . . 3 » 1 % $CaCl_2$-Lösung . . . 25 » Aq. destill.	0,000 »	$5^1/_2$ »	a) 0,044 » b) 0,045 »
II.	24 » Fibrinogenlösung . . . . 16 » Paraglobulinlösung . . . 8 » Nucleoalbuminlösung . . 3 » 1 % $CaCl_2$-Lösung. . . . 25 » Aq. destill.	0,358 »	$5^1/_2$ »	a) 0,0425 » b) 0,0435 »

		Zusammensetzung der Flüssigkeit.	Para-globulin-Zusatz (aschefrei).	Zeitverlauf zwischen dem Mischen der Flüssigkeit und dem Herausnehmen des Fibrins.	Erhaltene Fibrin[illegible]
Versuch IV.	I.	35 cbcm. Fibrinogenlösung . . . . 25 » 1 % Ca Cl-Lösung . . . . 30 » Fermentlösung (Hammarsten) . . . . 40 » Aq. destill.	0,000 gr.	$5^1/_2$ Stunden	a) 0,121 g[illegible] b) verlore[illegible]
	II.	35 » Fibrinogenlösung . . . . 25 » Paraglobulinlösung . . . 30 » Fermentlösung (Hamm.) 40 » Aq. destill.	0,285 »	$5^1/_2$ »	a) 0,1205 [illegible] b) 0,123
Versuch V.	I.	35 cbcm. Fibrinogenlösung . . . . 20 » 1 % Na Cl-Lösung . . . . 10 » Nucleoalbuminlösung . . 5 » 1 % Ca Cl_2-Lösung . . . 25 » Aq. destill.	0,000 »	5 »	a) 0.121 [illegible] b) 0,125 [illegible]
	II.	35 » Fibrinogenlösung . . . . 20 » Paraglobulinlösung . . . 10 » Nucleoalbuminlösung . . 5 » 1 % Ca Cl_2-Lösung . . . 25 » Aq. destill.	0,397 »	5 »	a) 0,135 [illegible] b) 0,138 [illegible]

NB. Die Gerinnung fand unmittelbar nach der Mischung der Flüssigkeit statt. Die gallertige Fibrinmasse liess sich durch das Umrühren zwar ziemlich fein vertheilen, aber nicht zu einem festen Klumpen zusammenbringen: vollständiges Auswaschen war in Folge dessen nicht möglich.

		Zusammensetzung der Flüssigkeit.	Para-globulin-Zusatz (aschefrei).	Zeitverlauf zwischen dem Mischen der Flüssigkeit und dem Herausnehmen des Fibrins.	Erhaltenes Fibrin.
Versuch VI.	I.	57 cbcm. Fibrinogenlösung . . . . 40 » 1 % Na Cl-Lösung . . . . 20 » Fermentlösung (Hamm.) 65 » Aq. destill.	0,000 gr.	6 Stunden.	0,184 gr.
	II.	57 » Fibrinogenlösung . . . . 40 » Paraglobulinlösung . . . 20 » Fermentlösung (Hamm.) 65 » Aq. destill.	0,534 »	6 »	0,204 »

NB. Das Fibrin war nur theilweise um die Stäbchen herumgewunden; theilweise hatte sich eine weiche Gallertmasse gebildet. Die Controleflüssigkeiten geronnen nicht; dieselben waren mit einer Schmidtschen Fermentlösung versetzt, welche schon einige Zeit aufbewahrt und dadurch unwirksam geworden war.

Versuch		Zusammensetzung der Flüssigkeit	Paraglobulin-Zusatz (aschefrei).	Zeitverlauf zwischen dem Mischen der Flüssigkeit und dem Herausnehmen des Fibrins.	Erhaltenes Fibrin.
	I.	80 cbcm. Fibrinogenlösung . . . . 25 » 1 % Na Cl-Lösung . . . . 40 » Fermentlösung (Hamm.) 40 » Aq. destill.	0,000 gr.	6 Stunden	0,117 gr.
	II.	80 » Fibrinogenlösung . . . . 25 » Paraglobulinlösung . . . 40 » Fermentlösung (Hamm.) 40 » Aq. destill.	0,687 »	6 »	0.117 »
Versuch VIII.	I.	35 cbcm. Fibrinogenlösung . . . , 19 » 1 % Na Cl-Lösung . . . . 13 » Nucleoalbuminlösung . . 3 » 1 % Ca Cl_2-Lösung . . . 50 » Aq. destill.	0,000 »	$5^1/_4$ »	a) 0,460 » [1] b) 0,435 »
	II.	35 » Fibrinogenlösung . . . . 19 » Paraglobulinlösung . . . 13 » Nucleoalbuminlösung . . 3 » Ca Cl_2-Lösung . . . . . . 50 » Aq. destill.	0,297 »	$5^1/_4$ »	a) 0,434 » b) 0,429 »
Versuch IX.	I.	26 cbcm. Fibrinogenlösung . . . . 25 » 1 % Na Cl-Lösung . . . . 10 » Fermentlösung (Hamm.) 75 » Aq. destill.	0,000 »	$6^1/_2$ »	a) 0,105 » b) 0,103 »
	II.	26 » Fibrinogenlösung . . . . 25 » Paraglobulinlösung . . . 10 » Fermentlösung (Hamm.) 75 » Aq. destill.	0,204 »	$6^1/_2$ »	a) 0,103 » b) 0,1005 »

In allen Versuchen wurde, nachdem das Stäbchen mit Fibrin aus dem Glas herausgenommen war, die Flüssigkeit noch einige Zeit aufbewahrt, um zu sehen, ob vielleicht noch mehr Fibrin ausgeschieden werde. Nur in Versuch IV war dies der Fall. In allen anderen Versuchen war die Gerinnung thatsächlich völlig abgelaufen, als mit dem Auswaschen des Fibrins angefangen ,wurde.

[1]) Das Fibrin in Glas Ia zeigte einen braunen Fleck, wahrscheinlich von hineingefallenem Metallstaub herrührend.

Nur in zwei Versuchen, V und VI, lieferte das paraglobulinhaltige Gemisch ein wirklich schwereres Gerinnsel als das paraglobulinfreie. Eben in diesen zwei Versuchen war es nicht gelungen, den Faserstoff in einen festen Klumpen zu vereinigen und war in Folge dessen tüchtiges Auswaschen unmöglich geworden. In den anderen Versuchen, deren Ergebnissen mehr zu trauen war, wurde von einer vermehrten Fibrinausscheidung in Folge des Paraglobulinzusatzes nichts gefunden.

Ich glaube daraus folgern zu dürfen, dass man das Recht nicht hat, dem Paraglobulin eine fördernde Wirkung auf die Gerinnung des Blutes zuzuschreiben. Wenn auch schon die Gerinnung von Hydrocele- und Pericardialflüssigkeit durch Paraglobulinzusatz gefördert werden kann, so hat man doch dabei in erster Linie an die Verunreinigung des Paraglobulins mit Ferment zu denken. Auch andere Verunreinigungen aber, Kalksalze z. B., können Einfluss haben. Ob, wie Hammarsten vermuthet, das Paraglobulin durch Bindung von Alkali oder Salz die Ausscheidung des Fibrins begünstigen kann, lasse ich dahingestellt. Mit Rücksicht auf Salz wird diese Vermuthung durch meine Versuche nicht gestützt. So lange aber ein Einfluss des Paraglobulins, frei von jeder Beimengung, nicht nachgewiesen ist — und solchem Einfluss wird von den Ergebnissen der Versuche, in welchen möglichst reine Fibrinogen- und Fermentlösungen gebraucht werden, widersprochen — so lange ist, wie ich glaube, kein Grund für die Annahme, das Paraglobulin spiele eine Rolle bei der Gerinnung des Blutes. Gegen die Beweiskraft meiner Versuche könnte aber eine Einwendung gemacht werden.

Hammarsten hat nachgewiesen, dass Paraglobulin, auch bei der sorgfältigsten Bereitung, von fibrinlösender Substanz verunreinigt sein kann[1]). Man könnte glauben, das Paraglobulin hätte in meinen Versuchen Anfangs zur Fibrinbildung beigetragen, noch vor dem Augenblick aber, wo die Stäbchen mit dem Fibrin aus den Gläsern herausgenommen wurden, die Zeit gehabt, mittelst der Stoffe, mit welchen es verunreinigt war, wieder einen Theil des Faserstoffes zu lösen.

---

[1]) Nova Acta, S. 53.

Sehr plausibel dürfte eine solche Annahme wohl kaum genannt werden. Denn es wäre doch sonderbar, dass dann in den verschiedenen Versuchen jedesmal genau ebensoviel Fibrin gelöst wäre, als erst durch das Paraglobulin gebildet sein sollte.

Ich habe mich aber durch besondere Versuche davon überzeugt, dass die genannte Einwendung für die oben beschriebenen Versuche nicht zutrifft.

Eine vorläufige Untersuchung hatte mich schon gelehrt, dass auch, wenn Fibrinogen nur mit Nucleoalbumin und $CaCl_2$ vermischt wird, der gebildete Faserstoff allmälig wieder gelöst werden kann, falls das Nucleoalbumin nicht frisch bereitet, sondern längere Zeit mit Wasser in Berührung gewesen ist. Das ist in viel höherem Maasse der Fall mit Nucleoalbumin aus Pferdeblutplasma, als mit aus Rinderblutplasma erhaltenem Nucleoalbumin. Desshalb habe ich in den oben beschriebenen Versuchen immer aus Rinderblut bereitetes Nucleoalbumin verwendet, welches nicht länger als für die Reindarstellung gerade erforderlich war, mit Wasser in Berührung gelassen wurde.

Es gilt nun für das Paraglobulin aus Rinderserum ebenso, dass dasselbe die Fähigkeit, Fibrin zu lösen, erst erhält, wenn es längere Zeit mit Wasser in Contact geblieben ist, wie aus den folgenden Versuchen hervorgeht.

Versuch X.

6 Gläser, a, b, c, d, e und f, wurden zu gleicher Zeit in den Rührapparat gebracht. Jedes enthielt 25 cbcm. Fibrinogenlösung, 17 cbcm. Hammarsten'sche Fermentlösung und 75 cbcm. destill. Wasser. Ausserdem enthielten a, c und e je 25 cbcm. 1 % Kochsalzlösung und b, d und f je 25 cbcm. Paraglobulinlösung (0,227 gr. aschefreies Paraglobulin). Das Paraglobulin war 4 × 24 Stunden dialysirt. Die Stäbchen mit Fibrin wurden nach verschiedenen Zeiten aus den Gläsern herausgenommen, und dann in der gewöhnlichen Weise behandelt. Das Gewicht des Fibrins betrug:

	Paragl.-frei.	Paragl.-haltig.
5½ St. nach dem Mischen der Flüssigkeit	a) 0,103 gr.	b) 0,0975 gr.
8 » » » » » »	c) 0,1035 »	d) 0,095 »
11 » » » » » »	e) 0,1045 »	f) 0,087 »

Versuch XI.

6 Gläser, a, b, c, d, e und f, jedes mit 45 cbcm. Fibrinogenlösung, 17 cbcm. Hammarsten'sche Fermentlösung, 75 cbcm. destill. Wasser. Ausserdem enthielten a, c und e je 30 cbcm. 1 % Na Cl-Lösung und b, d und f je 30 cbcm. Paraglobulinlösung (0,403 gr. aschefreies Paraglobulin). Das Paraglobulin war 20 Stunden dialysirt. Das Gewicht des Fibrins wurde gefunden:

	Paragl.-frei.	Paragl.-haltig.
Nach $5^1/_2$ Stunden . .	a) 0,1665 gr.	b) 0,175 gr.
» $11^1/_4$ » . .	c) 0,173 »	d) 0,174 »
» $22^1/_2$ » . .	e) 0,174 »	f) 0,175 »

Versuch XII.

4 Gläser jedes mit 26 cbcm. Fibrinogenlösung, 17 cbcm. Nucleoalbuminlösung, 2 cbcm. 1 % $CaCl_2$-Lösung und 75 cbcm. destill. Wasser. Ausserdem enthielten a und c je 25 cbcm. 1 % Na Cl-Lösung, und b und d je 25 cbcm. Paraglobulinlösung (0,245 gr. aschefreies Paraglobulin). Das Paraglobulin war 20 Stunden dialysirt. Das Gewicht des Fibrins wurde gefunden:

	Paragl.-frei.	Paragl.-haltig.
Nach $5^3/_4$ Stunden . .	a) 0,116 gr.	b) 0,115 gr.
» $23^3/_4$ » . .	c) 0,117 »	d) 0,1155 »

Aus diesen Versuchen geht nun hervor, dass das Paraglobulin nicht die geringste fibrinlösende Kraft hat, wenn es, nach dem Fällen mit CO_2 und dem Wiederlösen in NaCl, nicht länger als 20 Stunden dialysirt wird, wie ich gewohnt war, es zu machen. Auch wenn das Fibrin nahezu 24 Stunden mit der Flüssigkeit, aus welcher dasselbe ausgeschieden war, in Berührung blieb, wurde die Menge ebenso gross gefunden, wie wenn es schon 5 oder 6 Stunden nach dem Anfang der Fermentwirkung aus der Flüssigkeit herausgenommen wurde, ungeachtet ob Paraglobulin in der Lösung ab- oder anwesend war. Erst wenn das Paraglobulin längere Zeit mit Wasser in Berührung geblieben war, wenn es 4 × 24 Stunden gegen strömendes Leitungswasser dialysirt war (bei der niedrigen Temperatur, bei welcher die Dialyse stattfand, wurde das Paraglobulin nicht merklich mit Bakterien verunreinigt), kam, wie aus Versuch X zu sehen ist, eine fibrinlösende Wirkung ans Licht.

Die Frage, welcher Art die Stoffe sind, welchen die Lösung des Fibrins zugeschrieben werden soll, wünsche ich hier ausserhalb der Besprechung zu lassen. Für meinen Zweck genügt hier der Nachweis, dass frisch bereitetes Paraglobulin das einmal gebildete Fibrin unberührt liess, und dass man also nicht berechtigt sein würde, gegen meine ersten 9 Versuche — in welchen jedesmal frisch bereitetes Paraglobulin verwendet wurde — den Einwand zu machen, das Paraglobulin könnte vielleicht erst zur Fibrinbildung beigetragen haben, hätte aber nachher wieder soviel, als mehr wie in der paraglobulinfreien Lösung ausgeschieden war, gelöst.

Durch die oben beschriebenen Versuche kam ich in den Besitz einer relativ beträchtlichen Menge reinen Fibrins. Ich habe diese Gelegenheit für die Bestimmung des Gehaltes des Faserstoffes an Kalk benutzt.

Wie bekannt, hat Brücke[1]) schon in 1857 nachgewiesen, dass sorgfältig ausgewaschenes Blutfibrin an verdünnte Salzsäure Kalk abgibt. Seine Beobachtungen führten ihn zu dem Schluss, dass der Faserstoff den Kalk wahrscheinlich als Calciumphosphat enthält.

Kistiakowsky[2]) und später Freund[3]) bestätigten den Kalkgehalt des möglichst gereinigten Fibrins. Letztgenannter Forscher fand bei der Analyse der Asche des Fibrins darin etwa 50% CaO. Auch Arthus und Pagès[4]) fanden den Faserstoff immer kalkhaltig. «La fibrine», so sprechen sie sich aus, «préparée très soigneusement, et parfaitement lavée, renferme toujours des cendres en proportions sensiblement constantes, et ces cendres sont surtout formées de composés calciques».

Die genannten Forscher haben aber Alle mit aus Blut bereitetem Fibrin gearbeitet. Es wäre möglich, dass bei der Darstellung des Faserstoffes aus Blut die Entfernung der

---

[1]) Virchow's Archiv, Bd. XII, S. 186.
[2]) Pflüger's Archiv, Bd. IX, S. 443.
[3]) Medicinische Jahrb. 1888, S. 264.
[4]) Archives de Physiol. norm. et pathol., Ser. V, T. II, p. 743.

Kalksalze nicht gelang, dass dieselben aber dennoch als Verunreinigung aufgefasst werden müssten, umsomehr, als Hammarsten[1]) mitgetheilt hat, dass es ihm nicht gelungen ist, in aus reinen Fibrinogenlösungen erhaltenem Fibrin Kalk sicher nachzuweisen. Er bemerkt dabei aber selbst, dass die von ihm analysirten Fibrinmengen zu klein waren für eine endgültige Entscheidung der Frage.

Die Untersuchungen der letzten Jahre haben es, wenn nicht sicher gestellt, dann doch äusserst wahrscheinlich gemacht, dass Fibrin thatsächlich eine Calciumverbindung sei. In Uebereinstimmung damit hat Pekelharing[2]) in aus reiner Fibrinogenlösung erhaltenem Fibrin Kalk qualitativ nachweisen können. Aber auch die von ihm gebrauchte Fibrinmenge war zu gering für eine quantitative Bestimmung.

Unter diesen Verhältnissen glaubte ich es der Mühe werth, den Kalkgehalt meines, wie oben beschrieben, sehr sorgfältig gereinigten Fibrins zu untersuchen.

Das Fibrin wurde in der Platinschale verbrannt und der Rothglühhitze ausgesetzt, bis die Kohle verschwunden war. Die Asche wurde mit verdünnter Salzsäure ausgezogen. Sie löste sich darin nur theilweise. Sie hinterliess einen braungefärbten Rückstand, welcher durch Kochen mit starker Salzsäure theilweise in Lösung gebracht werden konnte; die gelb gefärbte Lösung gab mit Ferrocyankalium Eisenreaction.

Aus der mittelst verdünnter Salzsäure erhaltenen Lösung wurde der Kalk auf die bekannte Weise als Calciumoxalat gefällt und als CaO gewogen. Das Resultat war folgendes:

Gewicht des Fibrins.	Asche.	Rückstand der Asche nach der Extraction mit verdünnter HCl.	CaO.	
			Absolute Menge.	Auf 100 Th. trocknen Fibrins.
I. Rind, 3,303 gr.	0,016 gr.	0,007 gr.	0,0021 gr.	0,064 gr.
II. » 2,538 »	0,0215 »	0,0065 »	0,0026 »	0,1003 »
III. Pferd, 1,716 »	0,0135 »	0,0045 »	0,0012 »	0,073 »

[1]) Nova Acta, S. 97.

[2]) Internat. Beitr. z. wiss. Med. Festschr. Virchow gewidmet, Bd. I, S. 15, S.-A.

Es braucht kaum gesagt zu werden, dass die für diese Bestimmungen gebrauchten Fibrinmengen, wenn sie auch grösser wären als diejenigen, über welche andere Forscher, die das Fibrin aus reinen Fibrinogenlösungen darstellten, verfügten, dennoch nicht genügend sind für eine richtige Beurtheilung des Kalkgehaltes des reinen Faserstoffes. Soviel geht doch aber wohl mit Sicherheit aus den gefundenen CaO-Mengen hervor, dass Fibrin, auch wenn es aus reinem, kalkfreiem Fibrinogen erhalten wird, immer Calcium enthält, und zwar in einem Maasse, das keine Schwierigkeit liefert für die Auffassung, dass im Fibrin das Calcium chemisch mit dem Eiweissstoff verbunden ist. Ob das Calciumatom als solches mit dem Eiweiss in Verbindung tritt, oder auf andere Weise, als Calciumphosphat z. B., darüber ist, wie wie ich glaube, einstweilen nichts mit einiger Sicherheit auszusagen. In allen drei Versuchen fand ich in der Asche des Fibrins eine nicht näher bestimmte Menge Eisen. Ueber die Bedeutung desselben wage ich es nicht, ein Urtheil auszusprechen.

Leon Lilienfeld theilte neuerdings einige überraschende Beobachtungen mit, welche im Stande zu sein schienen, ein neues Licht auf die Zusammensetzung der fibrinogenen Substanz zu werfen[1]).

Diese Substanz sollte durch Behandlung mit künstlichem Magensaft gespalten werden und dabei ein Nucleïn liefern.

«Wenn man», so sagt er, «eine ganz reine Fibrinogenlösung, nach Hammarsten's Methode dargestellt, mit Pepsin-Salzsäure versetzt, so entsteht nach kurzer Zeit eine milchige Trübung, welche sich allmälig als ein gut filtrirbarer Niederschlag zu Boden setzt. Schmilzt man denselben mit Soda und Salpeter, so kann man reichliche Phosphormengen in ihm nachweisen. Dass es sich hier nicht um Verunreinigung mit Lecithin handelt, erhellt aus dem Umstande, dass das in künstlichem Magensaft unlösliche Spaltungsproduct des Fibri-

[1]) Verhandl. der Physiol. Gesellsch. Berlin, Sitzung am 21. Juli 1893.

nogens auch nach andauerndem Behandeln mit warmem Alkohol reichliche Phosphormenge enthält».

Ich habe mich von der Richtigkeit dieser Beobachtung nicht überzeugen können. Wiederholt habe ich Fibrinogen aus Rinder- oder Pferdeblut rein dargestellt, mit Pepsin und Salzsäure behandelt, in keinem Falle aber habe ich dabei die Entstehung eines Niederschlages beobachten können.

War die Fibrinogenlösung nicht salzarm, so bildete sich beim Zusatz von HCl bis auf einen Gehalt von 0,2 % eine Fällung, welche sich, nach Zusatz von künstlichem Magensaft bei 37° C. vollständig löste.

War die Fibrinogenlösung vorher, mittelst Dialyse gegen destillirtes Wasser, vom Salzüberschuss befreit, so verursachten die ersten Tropfen der zugefügten verdünnten Salzsäure eine Trübung, welche aber bald von mehr Salzsäure gelöst wurde, sodass die Flüssigkeit bei einem Gehalt von 0,2 % Salzsäure wieder vollkommen klar war. Auch in solchen Lösungen bildete sich bei der Digestion mit Pepsin nicht der geringste Niederschlag.

Es ist mir selbstverständlich nicht möglich, für den Unterschied zwischen den Beobachtungen Lilienfeld's und den meinigen eine Erklärung zu geben. Vielleicht werden weitere Mittheilungen Lilienfeld's hierüber Licht bringen.

Nur will ich hinzufügen, dass ich die Asche von mit Soda und Salpeter verbranntem, reinen Fibrinogen phosphorfrei fand. Weil das von mir dargestellte Fibrinogen alle für diesen Stoff charakteristischen Eigenschaften zeigte, kann ich also der Meinung Lilienfeld's nicht beistimmen, nach welcher das Fibrinogen nicht zu den Globulinen, sondern zu den Nucleoproteïden gerechnet werden soll.

Eine andere, sehr bemerkenswerthe Beobachtung Lilienfeld's habe ich vollkommen bestätigen können, dass nämlich aus einer reinen Fibrinogenlösung mittelst Essigsäure eine Fällung erhalten werden kann, welche, in wenig Alkali gelöst, von $CaCl_2$ allein, ohne Mithilfe von Nucleoalbumin, zur Gerinnung gebracht werden kann.

Ist die Fibrinogenlösung nicht salzarm, so löst sich der Niederschlag in Ueberschuss von Essigsäure nicht merklich, wohl aber, wenn die Flüssigkeit, mittelst Dialyse gegen destillirtes Wasser, so weit entsalzt ist, dass das Fibrinogen noch gerade in Lösung gehalten wird. Versetzt man die salzsaure Lösung mit einer sehr geringen Menge Essigsäure, so trübt sich die Flüssigkeit sofort gleichmässig. Nach einigen Augenblicken zeigen sich Flocken, welche, zumal beim Schütteln des Glases, bald grösstentheils zu einem Gallertklumpen zusammenkleben. Wird jetzt die Gallerte aus der Flüssigkeit herausgenommen, mit destillirtem Wasser gewaschen und in einer äusserst verdünnten Na_2CO_3-Lösung gelöst, so erhält man eine klare Flüssigkeit, welche, wie Lilienfeld entdeckte, durch Zusatz von $CaCl_2$ in wenigen Augenblicken zur Gerinnung gebracht wird. Das Gerinnsel hat vollkommen die Eigenschaften des Fibrins: es löst sich nicht merklich in NaCl 4%, es löst sich nicht, aber schwillt auf in HCl 0,2%, es wird dagegen leicht gelöst durch künstlichen Magensaft bei 37° C. Lilienfeld ist, obwohl er sich sehr vorsichtig darüber ausspricht, geneigt zu der Annahme, das Fibrinogen werde durch Essigsäure gespalten in einen Theil, welcher mit Kalk Fibrin liefern kann, und einen anderen Theil, welcher der Gerinnung entgegenwirkt.

Es liegt auf der Hand, hierbei an die Entdeckung Hammarsten's zu denken, dass das Fibrinogen bei der Gerinnung, sowohl durch Erhitzung auf 56—60° C. als durch Fermentwirkung, stets neben einem unlöslichen auch ein lösliches Gerinnungsproduct, das sogenannte Fibringlobulin, bildet. Ich fand nun wiederholt, dass die von der Essigsäurefällung abfiltrirte Flüssigkeit noch spurweise unverändertes Fibrinogen enthielt. Nachdem die Säure mit der entsprechenden Menge Natronlauge neutralisirt war — ich gebrauchte $^1/_{10}$ Normal-Lösungen — so entstand bei 53° oder 54° C. geringe Opalescenz. Die Flüssigkeit wurde dann bis auf 60° C. erwärmt und filtrirt. Das klare Filtrat trübte sich jetzt bei 65° C., und zwar mindestens ebenso stark als vorher bei 60° C. Da nun das lösliche Gerinnungsproduct stets in viel geringerer Menge

entsteht als das unlösliche, und hier also, wenn die bei 65° C. gerinnende Substanz nur von der geringen Fibrinogenmenge, welche die Essigsäure in Lösung gelassen hatte, hergestammt war, die Trübung bei 65° C. nicht oder kaum hätte bemerkbar sein müssen, so muss hieraus wohl gefolgert werden, dass nach der Fällung mit Essigsäure ausser ein wenig Fibrinogen auch eine bei 65° C. gerinnende Eiweisssubstanz in Lösung geblieben war.

Die Vermuthung wird dadurch nahe gelegt, dass das Fibrinogen bei der Behandlung mit verdünnter Essigsäure, ebenso wie bei der Gerinnung durch Fermentwirkung oder durch Erhitzung auf 56° C., neben einem unlöslichen auch einen löslichen bei 65° C. gerinnenden Eiweissstoff liefert. Man müsste sich dann vorstellen, dass das unlösliche Product anorganischen Kalksalzen Kalk zu entlehnen im Stande ist, und dass also die Wirkung des Fibrinferments darauf hinauskommen würde, dass es das Fibrinogen spaltet und zu gleicher Zeit dem einen Spaltungsproduct Kalk abgibt.

Ist diese Vorstellung richtig, so muss auch bei der Behandlung der mit Wasser gewaschenen und in Soda gelösten Essigsäurefällung mit $CaCl_2$ nur Fibrin erhalten werden, aber kein Fibringlobulin. Thatsächlich fand ich im von diesem Fibrin befreiten Serum zwar eine sehr geringe Menge einer bei 52° à 54° gerinnenden Substanz, nachdem diese aber durch Filtriren entfernt war, blieb die Flüssigkeit bei weiterem Erhitzen, selbst bis auf 100° C., klar.

Leider ist es mir aber nicht möglich gewesen, diese Untersuchung mehr in Einzelheiten fortzusetzen.

Wie aber auch die Antwort, welche die weitere Forschung auf die von Hammarsten noch unentschieden gelassene Frage, ob das Fibringlobulin als ein Spaltungsproduct oder als eine Modifikation des Fibrinogens zu betrachten ist, geben wird, sein möge, jedenfalls scheint es mir unrichtig, die Bedeutung des Fibrinferments für die Gerinnung als untergeordnet zu bezeichnen. Wenn Lilienfeld sagt: «Zur Erklärung des Gerinnungsvorganges brauchen wir also mithin nicht mehr den complicirten Apparat von Ferment, Serumglobulin und

Fibrinogen»[1]), so kann ich ihm nur soweit beistimmen, als das Serumglobulin bei der Gerinnung ausser Acht gelassen werden darf. Dass bei der Gerinnung des Blutes der Faserstoff durch die Einwirkung des Ferments, einer Nucleoalbumin-Kalkverbindung, auf das Fibrinogen entsteht, scheint mir durch keine einzige Beobachtung widersprochen zu werden.

---

[1]) L. c., S. 4.

Ueber die quantitative Bestimmung des Glycocolls in den Zersetzungsproducten der Gelatine.

Von

Charles S. Fischer.

(Der Redaction zugegangen am 16. Januar 1894.)

Mit der Erkenntniss der Constitution des Eiweissmolecüls, sowie mit der genaueren Kenntniss der Zersetzungsproducte des Eiweisses hängt zweifellos ein wesentlicher Fortschritt in dem Studium der Stoffmetamorphose zusammen. Aber leider bietet gerade die Bearbeitung der Albumine und Albuminoïde solche Schwierigkeiten, dass wir trotz einiger sehr schönen Arbeiten bis jetzt noch relativ wenig vom Eiweiss wissen. Die interessanten Untersuchungen von Hlasiwetz, Habermann[1]) und Horbaczewski, die klassischen Arbeiten von Schützenberger[2]) haben gewiss recht schätzenswerthe Beiträge zur Kenntniss der Proteïnstoffe geliefert, aber keineswegs haben die genannten, sowie andere weniger bedeutende Arbeiten es vermocht, das Gebiet der Eiweisskörper aufzuschliessen.

In den von Hlasiwetz und Habermann einerseits und Schützenberger andererseits angegebenen Untersuchungsmethoden sind bis heute neuere Methoden nicht hinzugekommen, die Anspruch auf Originalität machen könnten. Es sind allerdings Versuche publicirt worden, die Verbesserungen des älteren Verfahrens bezweckten, und die beim Arbeiten mit Eiweissstoffen stets sich darbietenden Schwierigkeiten aus dem Wege räumen wollten. Jedoch haben alle

---

[1]) Annalen 169, 150, 159, 304.

[2]) Ann. de chimie et de phys., 5. Serie, 16, 1879.

diese Versuche ausser einigen Kunstgriffen wenig Neues gebracht. Heute noch hat man bei den Untersuchungen mit Proteïnsubstanzen fast mit allen denselben Unannehmlichkeiten zu kämpfen, wie vor 20 Jahren. Bei den meisten Reactionen erhält man die bekannten Schmieren, aus denen sich nur sehr schwer einheitliche Körper in beachtenswerthen Mengen gewinnen lassen. Es dürfte feststehen, dass infolge dieser Schwierigkeiten in vielen Fällen die Zersetzungsproducte der Eiweisskörper schon bei der qualitativen Prüfung sich nicht alle mit Sicherheit constatiren lassen.

Es dürfte daher gewagt sein, heute schon Theorien über die Constitution des Eiweissmolecüls aufzustellen. Die Hypothesen, die auf diesem Gebiete aufgestellt worden sind, so sinnreich sie sein mögen, genügen nicht, diese Constitution zu erklären. Ehe es möglich sein wird, sich eine Vorstellung über die Structur des Eiweissmolecüls zu machen, muss man die Zersetzung desselben nicht nur in qualitativer Hinsicht kennen, es wird bei dem wahrscheinlich höchst complicirten Bau des Molecüls auch nöthig sein, auf quantitative Bestimmungen der Reactionsproducte Gewicht zu legen. Schon Schützenberger war dieser Ansicht. Er arbeitete darauf hin, die bei der Zersetzung der Albumine entstehenden Körper, wenn möglich der Menge nach, zu bestimmen, und er scheint dies, was die flüchtigen Theile betrifft, auch erreicht zu haben. Dagegen ist es ihm sowie späteren Forschern nicht gelungen, für die Bestimmung der krystallisirbaren Substanzen eine brauchbare Methode zu erfinden.

Aber auch abgesehen von der rein chemischen, von der theoretischen Frage über die Constitution, ist es doch zweifellos für die physiologisch-chemische Forschung, für das Studium des allgemeinen Stoffwechsels von bedeutendem Interesse, zur quantitativen Ermittelung der bei der Zersetzung der Proteïnkörper entstehenden Stoffe ein anwendbares Verfahren zu besitzen. Nur dann wird man die hier in Betracht kommenden Umwandlungen in den Geweben mit Erfolg studiren können.

Zunächst muss es allerdings fast unmöglich erscheinen, alle entstehenden Producte der Menge nach bestimmen zu

können. Wie schon oben gesagt, ist dies für die flüchtigen Producte von Schützenberger gemacht worden. Dagegen muss es zweifelhaft erscheinen, dass der von ihm angegebene Weg, die festen krystallisirbaren Substanzen zu bestimmen, zum Ziele führt. Das Wesen seiner Methode beruht darin, dass die durch Säuren und Basen aus den Eiweisskörpern erhaltenen Producte auf dem Wege der fractionirten Krystallisation getrennt werden sollten.

Wie unzuverlässig diese Art der Untersuchung ist, wird Jeder gemerkt haben, der sich eingehend mit derartigen Arbeiten beschäftigt hat.

Man erhält stets dicke, schmierige Massen, aus denen die krystallisirbaren Körper nur sehr langsam und — was das Unangenehmste ist — nur sehr unvollständig auskrystallisiren. Die hierbei entstehenden Verluste gestatten nicht, von einer quantitativen Methode zu sprechen.

Dass man dieser Methode der fractionirten Krystallisation wohl kaum vertrauen kann, ergeben die abweichenden Resultate, welche die verschiedenen Forscher bei der «quantitativen» Bestimmung des Leucins in den Zersetzungsproducten des Eiweisses erhalten haben. Habermann und Hlasiwetz[1]) finden an Leucin 26 % von der angewandten Eiweissmenge, Horbaczewski[2]) kommt zu 16 % und endlich Gmelin[3]) nur 2½ bis 3 % ganz reine Substanz — also gewiss recht verschiedene Ausbeuten.

Aus den angegebenen Zahlen ist ersichtlich, dass die Verluste sich bis auf 20 % belaufen können und ich habe mich durch zahlreiche Versuche davon überzeugt, dass solche Verluste absolut unvermeidlich sind, wenn man darauf ausgehen will, die Körper in reinem Zustande zu erhalten.

Die fractionirte Krystallisation kann man recht gut dazu verwenden, die verschiedenen Zersetzungsproducte nachzuweisen, aber um dieselben quantitativ zu bestimmen, müssen andere Methoden erdacht werden.

---

[1]) Annalen 169, 150.

[2]) Sitzungsbericht der Wiener Academie.

[3]) Dissertation Tübingen 1891.

Zunächst allerdings handelt es sich nur um die Bestimmung einer einzigen Substanz, um die des Glycocolls.

Die Anregung zu meinen Versuchen gaben die Arbeiten von Baumann und Udránszky[1]) über die Darstellung von Ptomainen durch Pankreasfäulniss der Eiweisskörper. Die von den genannten Forschern benutzte Ueberführung von löslichen Diaminen in unlösliche Benzoylverbindungen ist allgemein bekannt. Schon früher hat Baum[2]) angegeben, dass Glycocoll mit Benzoylchlorid und Natronlauge behandelt glatt und quantitativ in Hippursäure übergeführt werden kann. Es lag desshalb nahe, zu versuchen, ob nicht das Glycocoll auch in den Zersetzungsproducten der Eiweisskörper durch Ueberführung in Hippursäure quantitativ bestimmt werden könne.

Freilich beziehen sich meine Untersuchungen vorläufig nur auf Gelatine. Aber da die Annahme, dass die Eiweisskörper bei der Zersetzung kein Glycocoll geben, bis jetzt nicht mit Sicherheit bewiesen ist, so könnte zur Entscheidung dieser Frage das vorgeschlagene Verfahren von Wichtigkeit sein.

Ich gebe gerne zu, dass auch die folgende Methode vorläufig noch kleine Mängel zeigt, doch dürften diese durch weitere Versuche bald ausgemerzt sein.

Zur Zersetzung der Gelatine benutzte ich das von Habermann und Hlasiwetz vorgeschlagene Verfahren[3]), ohne aber zu der ursprünglichen salzsauren Lösung Zinnchlorür zuzugeben.

Des Letzteren haben sich die genannten Forscher bedient, um die dunkle Farbe der Lösung zu vermeiden. Diese dunkle Farbe tritt allerdings ohne Benutzung von Zinnchlorür immer auf, aber ich habe dies bis jetzt nicht als einen besonders grossen Nachtheil empfinden können, da die Braunfärbung im Verlauf der weiteren Verarbeitung des Reactionsproductes wieder verschwindet. Bei der Behandlung der tiefbraunen salzsauren Lösung mit Bleioxyd setzt sich der Farbstoff fest

[1]) Berichte 1888, 2744. Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. XIII, S. 562.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. IX, S. 465.

[3]) Annalen 169, 150.

auf das ausgeschiedene Bleioxychlorid ab; die von Letzterem getrennte Flüssigkeit erscheint vollkommen klar und nur ganz schwach gelb gefärbt. Andererseits ist aber die Anwendung von Zinnchlorür desshalb nicht zu empfehlen, weil durch das Ausfällen des Zinns mittelst Schwefelwasserstoff das Abfiltriren des Schwefelzinns, Eindampfen des Filtrats die Anzahl der Operationen sich beträchtlich vermehrt und die Gefahr für Verluste grösser wird.

Aus demselben Grunde ist es auch angezeigt, nur mit relativ geringen Quantitäten zu arbeiten, da bei zu grossen Niederschlägen und zu grossen Flüssigkeitsmengen das Filtriren, Auswaschen, Eindampfen in unhandlichen Gefässen vorgenommen und das ganze Operiren zu umständlich werden muss. Auf Grund vieler Versuche halte ich die Anwendung einer Menge von ca. 50 gr. für sehr geeignet. Ich möchte betonen, dass natürlich bei allen Operationen auf das Peinlichste «quantitativ» gearbeitet werden muss, dass die Wägungen genau, das Filtriren, Auswaschen und Eindampfen ebenso exact ausgeführt werden müssen, wie man dies bei anorganischen Bestimmungen gewöhnt ist.

Ich will nun in Folgendem den Gang der Analyse genau beschreiben.

In einem 500 cbcm. fassenden Rundkolben bringt man ca. 50 gr. (genau abgewogen) zerkleinerte reine Gelatine unter beständigem Umschütteln allmälig mit 100 cbcm. Wasser zusammen. Die erweichte und aufgequollene Masse versetzt man mit 100 cbcm. einer conc. Salzsäure, indem man so lange umschüttelt, bis vollständige Lösung eingetreten ist. Man kocht alsdann ununterbrochen 72 Stunden lang am Rückflusskühler, wobei gegen Ende der Operation wegen eintretenden Stossens vorsichtiges Erhitzen geboten ist.

Das Reactionsproduct wird in einer Porzellanschale auf dem Wasserbad zur Neutralisation der Salzsäure unter beständigem Umrühren so lange mit in wenig Wasser suspendirtem, fein zerriebenem Bleioxyd versetzt, bis die Flüssigkeit neutrale oder besser schwach alkalische Reaction zeigt. Beim langsamen Erkalten setzt sich der Niederschlag gut ab. Häufig

nimmt allerdings die Masse in lauwarmem Zustande eine zähe, teigige Consistenz an, beim vollständigen Erkalten jedoch wird auch in diesem Falle die Substanz bröcklig, sodass sie unter der Flüssigkeit gut zerrieben werden und sich zu Boden senken kann. Die überstehende kalte Flüssigkeit trennt man mittelst Decantation durch ein kleines Filter von dem abgeschiedenen Oxychlorid; man digerirt dieses in der Schale öfters mit kaltem Wasser, lässt den Niederschlag sich immer möglichst absetzen, decantirt die Waschwasser durch das Filter und spült schliesslich den ganzen Niederschlag auf dasselbe. Nachdem man vollständig hat abtropfen lassen, entfernt man das in Lösung gegangene Bleisalz durch Schwefelwasserstoff, filtrirt vom Niederschlage ab, wäscht diesen gut aus und dampft Filtrat mit Waschwasser auf dem Wasserbad soweit ein, bis sich eine Krystallhaut bildet und die Menge der Masse ungefähr 50 cbcm. beträgt. Dieses aus den Zersetzungsproducten der Gelatine bestehende Gemisch wird nun in 10procentiger überschüssiger Natronlauge gelöst, und zwar hat sich ergeben, dass am Besten ungefähr das siebenfache Volumen vom Krystallbrei an Natronlauge angewandt wird. Unter diesen Verhältnissen löst sich das Gemenge der Amidosäuren zu einer hellgelben, klaren Flüssigkeit auf.

In einem mit Korkpfropfen gut verschliessbaren Cylinder, der ungefähr das doppelte Volumen von der in Rede stehenden Lösung fasst, wird letztere mit Benzoylchlorid versetzt. Bei Anwendung von 50 gr. Gelatine genügen 25 cbcm. des Chlorids. Es ist dieses in kleineren Portionen von ungefähr 5 cbcm. unter beständigem Umschütteln der Flüssigkeit zuzugeben. Zuerst verschwindet der Geruch des Benzoylchlorids rasch, während gegen Ende der Operation das Reagens nur langsam und schliesslich gar nicht mehr zersetzt zu werden scheint. Bei normalem Verlauf des Processes bedarf dieser circa eine Stunde. Zuweilen scheiden sich bei der Reaction in der stark alkalischen Flüssigkeit harzige braune Massen ab, welche wohl die Benzoylverbindungen des Leucins und der Glutaminsäure vorstellen. Diese Harzabsonderung wirkt aber in keiner Weise störend.

Es ist selbstverständlich, dass bei Untersuchungen von anderen Proteïnsubstanzen durch Controlversuche festgestellt werden muss, in welchen Mengen das Benzoylchlorid zur Anwendung zu kommen hat, um die vollständige Ueberführung des Glycocolls in Hippursäure zu bewirken. Die Angaben beziehen sich vorläufig nur auf die Zersetzung von Gelatine.

Ist die Einwirkung des Benzoylchlorids beendet, so säuert man mit concentrirter Salzsäure stark an und schüttelt die aus den Natriumsalzen freigemachten Benzoylverbindungen mit Essigäther so lange aus, bis dieser beim Verdunsten keinen Rückstand mehr hinterlässt. Man benutzt hierbei immer denselben Aether, indem man ihn direkt nach jeder Extraction abdestillirt. Um nicht zu oft ausschütteln zu müssen, ist der Aether jedesmal möglichst vollständig mit einer Pipette abzuheben. Die Anwendung des Essigäthers anstatt des gewöhnlichen Aethers ist desshalb zu empfehlen, weil dieser die Hippursäure nur schwer aufzunehmen im Stande ist, und in Folge dessen erstens das Ausschütteln viel längere Zeit beanspruchen würde und ausserdem auch die Extraction kaum eine vollständige sein dürfte.

Ist die Ausschüttelung beendet und lässt man die letzten Reste des Essigäthers auf dem Wasserbade vollständig verdunsten, so erhält man schliesslich eine dicke, braune, syrupartige Mischung von Hippursäure, Benzoësäure und den Benzoylverbindungen der anderen hier in Betracht kommenden Amidosäuren. Die Versuche, aus diesem Gemenge durch Krystallisation die Hippursäure abzuscheiden oder die Benzoësäure durch Auskochen mit Petroleumäther zu entfernen, sind als gescheitert zu betrachten.

Im ersten Falle krystallisirt entweder gar keine Hippursäure oder nur eine ganz geringe Quantität derselben aus, während bei der Extraction mit Petroleumäther die Benzoësäure nur durch anhaltendes Kochen am Rückflusskühler in bemerkenswerthen Mengen aus der dicken schmierigen Masse zu gewinnen ist. Die letztere Operation würde einen solchen Zeitaufwand beanspruchen, dass sie bei der Aus-

arbeitung einer rationellen quantitativen Trennungsmethode nicht in Betracht kommen kann.

Dagegen kann das Verhalten der Hippursäure einerseits und der Benzoësäure andererseits gegen Chloroform sehr gut zur Trennung der beiden Substanzen benutzt werden.

Aus einem Gemisch der Säuren zieht Chloroform überraschend schnell die Benzoësäure aus, während das Benzoylglycocoll fast quantitativ zurückbleibt. Aus einer Lösung der Säuren in Essigäther wird durch überschüssiges Chloroform die Hippursäure nach und nach beinahe vollständig gefällt, während die Benzoësäure ganz in Lösung bleibt.

Auf diesen Thatsachen gründet sich die weitere Behandlung unseres Reactionsproduktes. Die nach der Abdunstung des Essigäthers hinterbleibende syrupartige Masse wird im Kolben mit einem ziemlich grossen Ueberschuss (100 cbcm.) von Chloroform versetzt, wobei eine vollständige klare Lösung resultirt. Diese lässt man 24 Stunden im gut verschlossenen Kolben an einem kühlen Orte stehen. Gewöhnlich schon sofort, zuweilen erst nach einiger Zeit beginnt die Hippursäure sich als feines weisses Pulver abzuscheiden. Die Ausscheidung ist nach 24 Stunden beendet.

Mittelst Saugpumpe wird die Chloroform-Lösung durch ein kleines, getrocknetes und gewogenes Filter filtrirt, das Krystallpulver vollständig auf das Filter gebracht und mit kaltem Chloroform so lange rasch nachgewaschen, bis der Niederschlag rein weiss geworden ist. Nach dem Trocknen desselben auf 110° wird Filter sammt Inhalt gewogen. Auf diese Weise erhält man das Benzoylglycocoll quantitativ als weisses krystallinisches Pulver, welches schon jetzt den richtigen Schmelzpunkt zeigt und nur eines einmaligen Umkrystallisirens aus heissem Wasser bedarf, um sich in den schönsten vollständig ausgebildeten Krystallen abzuscheiden.

Es war zu erwarten, dass sich aus der Mutterlauge durch längeres Stehenlassen, durch weiteren Chloroformzusatz oder durch Concentration noch Säure gewinnen lassen würde. Doch alle zu diesem Zwecke angestellten Versuche erwiesen sich als fruchtlos. Sogar vollständiges Eindampfen der Lösung

und mehrmalige Wiederholung der ganzen Operation — wobei ganz verschiedene Mengen Chloroform zur Anwendung kamen — führten zu keinem Resultat.

Auch auf Zusatz von Petroleumäther, indem Hippursäure ja ganz unlöslich ist, zur Lösung in Chloroform fiel kein Benzoylglycocoll mehr aus, nur setzten sich hierbei die anderen Säuren als harzige schmierige Massen zu Boden.

Es drängt sich selbstverständlich die Frage auf: Wird durch die Gegenwart der bei der Zersetzung der Gelatine ausser Hippursäure entstehenden Säuren die Ausbeute an jener nicht wesentlich beeinflusst?

Zur Beantwortung dieser Frage schien es mir angezeigt, nach zwei Richtungen hin Versuche anzustellen; erstens musste untersucht werden, ob nach Entfernung der eventuell störenden Körper die besprochene Methode dieselben Resultate lieferte und zweitens musste das Verhalten dieser Körper in reinem Zustande, also bei Abwesenheit von Benzoylglycocoll, gegen die in Betracht kommenden Reagentien geprüft werden.

Die diesbezüglich angestellten Versuche ergaben für die Methode günstige Resultate.

Liessen wir nach der Salzsäurespaltung die Glutaminsäure vollständig auskrystallisiren und behandelten dann die glutaminsäurefreie Substanz genau so, wie oben angegeben, so erhielten wir dieselbe Ausbeute an Hippursäure wie früher.

Auch änderten sich die Zahlen nicht, wenn leucinfreie Präparate der Analyse unterworfen werden.

Es war fernerhin nicht unmöglich, dass die Behandung mit Essigäther zu Esterbildung Veranlassung geben und dadurch die Entstehung der Schmieren bewirken könnte.

Mir gelang es jedoch nie, Glycocollester in dem Essigätherauszug nachzuweisen.

Ausserdem erhielt ich bei Benutzung von absolutem, alkoholfreiem Aether genau dieselben schmierigen Produkte wie bei Anwendung von Essigäther.

Ehe ich die Versuche bespreche, die angestellt worden sind, um das Verhalten von reinem Leucin und reiner Glutamin-

säure bei der mir vorgeschlagenen Methode zu constatiren, will ich die Resultate der ausgeführten Analysen mittheilen.

Versuch I.

Gelatine	50 gr.
Wasser	100 cbcm.
Salzsäure conc.	100 »
Natronlauge (10 %)	350 »
Benzoylchlorid	25 »
Hippursäure, gefunden	4,6967 gr.
Daraus Glycocoll auf Gelatine berechnet .	3,92 %.

Versuch II.

Gelatine	50 gr.
Wasser	100 cbcm.
Salzsäure, conc.	100 »
Natronlauge (10 %)	350 »
Benzoylchlorid	25 »
Hippursäure, gefunden	4,7771 gr.
Daraus Glycocoll auf Gelatine berechnet .	3,98 %.

Versuch III.

Gelatine	49.99 gr.
Wasser	100 cbcm.
Salzsäure, conc.	100 »
Natronlauge (10 %)	350 »
Benzoylchlorid	25 »
Hippursäure, gefunden	4,2513 gr.
Daraus Glycocoll auf Gelatine berechnet .	3,54 %.

Versuch IV.

Gelatine	49,50 gr.
Wasser	100 cbcm.
Salzsäure, conc.	100 »
Natronlauge (10 %)	350 »
Benzoylchlorid	25 »
Hippursäure, gefunden	4,3951 gr.
Daraus Glycocoll auf Gelatine berechnet .	3,71 %.

Da die Hippursäure nicht absolut unlöslich in Chloroform ist, so habe ich einige Versuche gemacht, um zu ermitteln, ob für diese Resultate vielleicht kleine Correctionen anzubringen sind.

0,2047 gr. Benzoylglycocoll wurden mit 30 cbcm. Chloroform übergossen und 24 Stunden im gut verschlossenen

Kolben stehen gelassen. Der ungelöste Rest wurde gewogen und es ergab sich, dass 0,0310 gr. in Lösung gegangen sind, was einer Löslichkeit von 0,1030 gr. in 100 cbcm. Chloroform entspricht. Ein zweiter Versuch ergab die Löslichkeit von 0,1131 gr. in 100 cbcm. Chloroform.

Da auch durch das Waschchloroform kleinere Mengen der Benzoylverbindung in Lösung gegangen sind, so wurde auch die approximative Bestimmung der Quantität versucht. 0,66175 gr. Hippursäure wurden auf ein Filter gebracht und mit 40 cbcm. Chloroform übergossen.

Das in einem abgewogenen Bechergläschen aufgefangene Filtrat wurde auf dem Wasserbade zur Trockne verdampft. Das Gewicht des Rückstandes gab an, dass von 100 cbcm. Chloroform auf diese Weise 0,0515 gr. Hippursäure aufgenommen worden waren; ein zweiter Versuch ergab die Zahl 0,0506.

Es lässt sich demnach so mit Leichtigkeit, wenn es sich um absolute Genauigkeit handelt, eine entsprechende Correction anbringen.

Analyse der gefundenen Hippursäure.

1)	Hippursäure	0,2005 gr.
	Stickstoff	14,2 cbcm.
	» Procent	7,81 »
	» » Theorie . .	7,82 »
2)	Hippursäure	0,3361 gr.
	Stickstoff	23,2 cbcm.
	» Procent	7,68 »
	Hippursäure	0,1930 gr.
	CO_2, gefunden	0,4230 »
	C, Procent	59,74
	H, gefunden	0,0932 gr.
	H, Procent	5,33

Es ist oben erwähnt, dass zur Controlle der Methode auch Versuche mit den neben dem Glycocoll bei der Zersetzung sich bildenden Säuren angestellt wurden. Hier können meines Erachtens nur Glutaminsäure und Leucin Interesse

beanspruchen, da die von Drechsel[1]) beobachteten Lysin, Lysatin und Lysatinin sowie die von Schulze[2]) erwähnte Phenylpropionsäure in zu minimalen Mengen auftreten, um hier in Betracht kommen zu können.

Da die Benzoylverbindungen von Glutaminsäure sowohl wie von Leucin wenig untersucht worden sind, — die von Destrem[3]) mit Leucin ausgeführten Experimente scheinen nicht besonders grossen Erfolg gehabt zu haben — so schien es nicht werthlos zu sein, das Verhalten derselben zu studiren.

Ich habe desshalb die beiden Säuren in reinem Zustande dargestellt und sie, wie oben beschrieben, der Analyse unterworfen.

Fünf Gramm reine in überschüssiger, zehnprocentiger Natronlauge gelöste Glutaminsäure wurden unter beständigem Umschütteln mit Benzoylchlorid so lange in kleinen Portionen versetzt, bis der Geruch des letzteren nicht mehr verschwand. Nach dem Ansäuern mit Salzsäure wurde mit reinem Aether ausgeschüttelt, der Aether möglichst vollständig abdestillirt und die letzten Reste desselben durch Erhitzen auf dem Wasserbad verjagt. Durch längeres Auskochen des Extractes am Rückflusskühler mit Petroleumäther konnte die Benzoësäure vollständig entfernt werden; es hinterblieb eine dicke, dunkelbraungefärbte, in kaltem Wasser unlösliche, in heissem Wasser und Alkohol dagegen lösliche Masse, die in keiner Weise zum Krystallisiren gebracht werden konnte.

Die Lösung in viel heissem Wasser schied beim Erkalten den Körper wieder als Oel aus, während er von Chloroform so leicht aufgenommen wurde, dass er noch mit ganz geringen Mengen desselben eine ganz homogene Flüssigkeit bildete, aus der keine Spur eines festen Productes zu erhalten war.

Aehnliche Resultate erhielt ich bei der Untersuchung von Benzoylleucin. Das aus Gelatine nach den Angaben von Hlasiwetz und Habermann[4]) dargestellte Rohleucin wird

---

[1]) Sitzungsbericht der sächsischen Gesellschaft der Wissenschaften, April 1889 und 1892, Seite 115.

[2]) Zeitschrift für physiologische Chemie. Bd. IX, 63.

[3]) Bulletin de la Société chimique, Bd. 30. S. 561.

[4]) Annalen 169, 150.

zur Reinigung zunächst durch Absaugen und Abpressen auf Thonplatten möglichst getrocknet und dann am Rückflusskühler mit wenig ammoniakalischem Alkohol gekocht, bis Lösung eingetreten.

Es wird dann die heisse Flüssigkeit unter Benutzung von Saugpumpe und Heisswassertrichter filtrirt. Beim Abkühlen scheiden sich aus dem Filtrat kuglig gestaltete, gelbliche, anscheinend amorphe Massen ab, die durch Filtration und Abpressen von der Mutterlauge befreit werden. Diese, in wenig heissem Wasser aufgelöst, werden durch heisse Kupferacetatlösung in Kupferleucin überführt und zwar wird von dem Reagens so lange zugesetzt, bis die Flüssigkeit tief blau erscheint. Schon in der Hitze scheidet sich die Kupferverbindung des Leucins grösstentheils in hellblauen Schuppen ab. Aus der Mutterlauge lassen sich noch beträchtliche Mengen der Verbindung gewinnen, indem man auf dem Wasserbad unter Umrühren zur Trockne verdampft. Den fast schwarzen Trockenrückstand behandelt man mit kaltem Wasser, wobei das Kupferleucin ungelöst bleibt. Dieses wird in ein wenig heissem Wasser suspendirt, durch Schwefelwasserstoff zersetzt und das Filtrat vom Schwefelkupfer zur Trockne verdampft. Durch heissen ammoniakalischen Alkohol in Lösung gebracht, erhält man beim Erkalten das Leucin als kleine, perlmutterglänzende Schuppen im Zustande der Reinheit.

Werden von diesem reinen Product 5 gr. in der oben beschriebenen Weise behandelt, so erhält man auch hier einen dicken hellgelben Syrup, der sich gegen Lösungsmittel genau so verhält, wie die Verbindung der Glutaminsäure. In heissem Wasser, Alkohol und Chloroform ist er leicht löslich und es kann aus diesen Lösungsmitteln kein krystallinischer Körper abgeschieden werden.

Ich beabsichtige, sowohl diese als auch die bei der Behandlung der Glutaminsäure erhaltene einem genaueren Studium zu unterwerfen.

Jedenfalls glaube ich mit Recht die Annahme aussprechen zu dürfen, dass die Gegenwart von Leucin und Glutaminsäure

die Resultate bei meinem vorgeschlagenen Verfahren nicht beeinträchtigen wird.

Ich habe schon oben erwähnt, dass die besprochene Methode nicht ganz einwandfrei ist, dass auch sie kleine Mängel besitzt; jedoch wird sie schon so, wie sie ist, für physiologische Untersuchungen gewiss recht gute Dienste zu leisten im Stande sein. Trotzdem wird es natürlich mein Bestreben sein, sie zu verbessern und wenn möglich zu vereinfachen.

Das Vorkommen der Amidoessigsäure im thierischen Organismus ist keineswegs vollständig untersucht, und da die Constatirung und wenn möglich die quantitative Bestimmung derselben in den verschiedenen Organen von zweifellos grossem Interesse für das Studium des Stoffwechsels ist, so wird man wohl der Methode in Zukunft einige Aufmerksamkeit zuwenden können.

Was die Art und Weise der Bearbeitung der Organe anbelangt, so würde ich vorschlagen, das betreffende Organ in möglichst frischem Zustande zu zerkleinern, mit Wasser auszuziehen und das Fett durch Chloroform zu entfernen. Die eingedampfte wässerige Lösung wäre dann mit Natronlauge zu versetzen und mit Benzoylchlorid in der oben besprochenen Weise zu behandeln.

Ich glaube, dass die Untersuchung der Muskeln in diesem Sinne interessante Ergebnisse zu verzeichnen haben wird. Ferner könnte vielleicht die bisher von Einigen gemachte Annahme, dass das Glycocoll als Vorstufe für die Harnsäurebildung im Organismus zu betrachten sei, durch die quantitative Untersuchung ihre Bestätigung erfahren.

Die Frage, ob es wirklich die wahren Eiweisskörper beim Behandeln mit Basen und Säuren gar kein Glycocoll liefern, ist früher besprochen worden.

Es wird gewiss lohnend sein, in dieser Richtung eine Reihe von Prüfungen anzustellen, und besonders interessant könnte die Untersuchung des Serumalbumins sein. Nicht weniger wichtig wird die Analyse der Verdauungsproducte

des Leims sein, ich halte es für möglich, dass wir so einen Einblick in die Natur des Verdauungsprocesses bekommen.

Auch die Untersuchung der Nucleinbasen, welche bekanntlich überall im Organismus als intermediäre Producte bei der Harnstoffbildung auftreten und bei der Zersetzung Glycocoll geben, wird gewiss zu interessanten Ergebnissen führen.

Was schliesslich die Albuminoide selbst anbetrifft, so werden hier bei der Untersuchung vor allen Dingen Körper wie Elastin, Kreatin, Conchiolin, Fibroin und Spongin in Betracht kommen müssen.

Diese Untersuchungen wurden im chemisch-physiologischen Universitäts-Laboratorium zu Strassburg auf Anregung des Herrn Prof. Dr. Hoppe-Seyler ausgeführt. Es sei mir gestattet, an dieser Stelle meinem hochverehrten Lehrer für dessen steten Rath und Beistand meinen bleibenden Dank auszusprechen.

Ueber die Beziehung des Plasmas zu den rothen Blutkörperchen und über den Werth verschiedener Methoden der Blutkörperchenvolumbestimmung.

Von

Dr. E. Biernacki,

Assistent an der Klinik.

(Aus dem Laboratorium der medicinisch-diagnostischen Klinik zu Warschau.)

(Der Redaction zugegangen am 26. Januar 1894.)

Als eine neue klinische Methode der Blutuntersuchung ist die Bestimmung des Gesammtvolums der rothen Blutkörperchen mittelst der Centrifugalkraft und des dazu dienenden Apparates, sog. «Hämatokrit», in der letzten Zeit eingeführt worden. Zuerst haben diese Methode Blix und Hedin beschrieben; bald darauf modificirte Gärtner den ursprünglichen Apparat und in kurzer Zeit ist eine Reihe von «hämatokritischen» Blutuntersuchungen erschienen (Daland[1]), Niedergall[2]), Friedheim[3]), M. Herz[4]). Man ersah in der Blutkörperchenvolumbestimmung vor allen Dingen die Methode, die die Blutkörperchenzählung vertreten kann; nachdem es sich aber herausgestellt hat, dass die Grösse des Sedimentes in dem Hämatokrite mit der Blutkörperchenzahl nicht immer parallel geht, solle die genannte Methode eine Ergänzungsmethode der Blutkörperchenzählung sein und die Zusammenstellung der Ergebnisse beider Methoden zu

---

[1]) Daland, Ueber das Volum der rothen und weissen Blutkörperchen, Fortschritte der Medicin, 1891, Nr. 20.

[2]) Niedergall, cit. nach F. A. Hoffmann's Lehrbuch der Constitutionskrankheiten.

[3]) Friedheim, Ueber die Volumbestimmung der rothen Blutkörperchen etc., Berlin. klinisch. Wochenschr., 1893, Nr. 4.

[4]) M. Herz, Blutkrankheiten, Virchow's Archiv 1893.

Schlüssen über das durchschnittliche Volum einzelner Blutkörperchen führen. Endlich hob man als einen besonderen Vortheil der Methode den Umstand hervor, dass dabei gleichzeitig mit dem Volum der rothen Blutkörperchen auch das der weissen bestimmt wird, was für die Diagnose beginnender Leukämie von grossem Nutzen sein kann (v. Jaksch[1]).

Indessen ist vor Kurzem eine Abhandlung von L. Bleibtreu[2]) erschienen, in welcher der Verfasser nach einer strengen Kritik den Wunsch ausspricht, «dass der Hämatokrit möglichst bald wieder aus den klinischen Laboratorien verschwinden möchte». Nach L. Bleibtreu enthält die hämatokritische Methode vor allen Dingen den principiellen Fehler, dass die Blutkörperchen wegen ihrer biconcaven Gestalt einen homogenen Bodensatz ohne mit Plasma gefüllte Zwischenräume nicht bilden können. Dadurch müsse man schon a priori erwarten, dass die Volumbestimmung mit dem Hämatokrit zu hohe Werthe ergebe. Dies hat sich thatsächlich aus der Zusammenstellung der hämatokritischen Daten mit den Ergebnissen der physiologischen Methode des Verfassers und M. Bleibtreu's herausgestellt: danach gibt der Hämatokrit nicht nur das Volum der gesammten Blutkörperchen zu hoch an, sondern es besteht auch keinerlei gesetzmässiges Verhältniss der falschen zu den richtigen Werthen. So wurde z. B. in einem Falle mit dem Hämatokrit 37,5 % Blutkörperchen und nach der Methode von M. und L. Bleibtreu blos 25,4 %, in einem anderen Falle — nach der ersten Methode 42,75 %, nach der zweiten 25,16 % bestimmt.

Die Methode von M. und L. Bleibtreu[3]) beruht darauf, dass man defibrinirtes Blut mit physiologischer (0,6 %) Kochsalzlösung in verschiedenen Verhältnissen mischt und dann, nachdem sich die Blutkörperchen zu Boden gesenkt haben, in 5 cbcm. Serum verschiedener Mischungen den Gehalt an

---

[1]) v. Jaksch, Klinische Diagnostik, III. Ausg.

[2]) L. Bleibtreu, Kritisches über den Hämatokrit, Berlin. klin. Wochenschr., 1893, Nr. 30.

[3]) M. und L. Bleibtreu, Eine Methode zur Bestimmung der körperlichen Elemente im Blut, Pflüger's Archiv, 1891, Bd. 51.

Stickstoff nach der Kjeldahl'schen Methode bestimmt. Dabei — «es wird in der Flüssigkeit der Procentgehalt an N in dem Maasse vermindert sein, als der Blutflüssigkeit Salzlösung zugesetzt worden ist». Indem man nun die Werthe der verwendeten Blutmenge, der zugesetzten Kochsalzlösung und des Stickstoffgehaltes in verschiedenen Sera vor sich hat, kann man daraus das Volum der Blutflüssigkeit in dem untersuchten Blute nach der Formel leicht berechnen.

$$x = \frac{1}{n_1 - n_2}\left(n_2 \frac{s_2}{b_2} - n_1 \frac{s_1}{b_1}\right)$$

wo b_1, b_2 etc. die Blutmengen, s_1, s_2 das Volum der zugesetzten Kochsalzlösung, n_1, n_2 den Gehalt an Stickstoff in verschiedenen Mischungen und x den gesuchten Bruchtheil des Serums in der untersuchten Blutvolumseinheit bezeichnen.

Es muss hier speciell darauf aufmerksam gemacht werden, dass die Einwände L. Bleibtreu's nicht nur den Hämatokrit, sondern überhaupt das ganze Sedimentirungsprincip in dieser Methode der Blutkörperchenvolumbestimmung betreffen. Bekanntlich wird das Centrifugiren eben mit dem Zwecke angewendet, um das einfache Sedimentiren zu beschleunigen: dabei wird es im Voraus angenommen, dass das einfache Sedimentiren dieselben Werthe wie das Sedimentiren durch die Centrifugalkraft ergibt. Dies war aber in einigen diesbezüglichen Versuchen von M. und L. Bleibtreu nicht immer der Fall: z. B. in einem Pferdeblut ergab der Hämatokrit 37,5 % und das einfache Sendimentirung ohne Anwendung der Centrifuge nur 32,55 %. Im zweiten Pferdeblutversuche fand dasselbe statt; in beiden war aber wirkliches Volum nach M. und L. Bleibtreu noch kleiner, als die Senkungsschicht im sich selbst überlassenen Blute.

Die Abhandlung von L. Bleibtreu ist zur Zeit erschienen, als ich im Laufe meiner Untersuchungen über die quantitative Zusammensetzung des pathologischen Blutes[1])

---

[1]) E. Biernacki, Ueber die chemische Constitution des pathologischen Blutes, Wiener medicin. Wochenschr., 1893, Nr. 43 u. 44. Zeitschrift f. klin. Medicin, Bd. 24, H. 5 u. 6. Auch in polnischer Sprache: Gazeta lekarska, 1893.

schon im Besitz einer grösseren Reihe der Blutkörperchenvolumbestimmungen mittelst einfacher Sedimentirung war und dabei gewisse Beobachtungen und Erfahrungen gemacht hatte, die mit den L. Bleibtreu'schen Auseinandersetzungen nicht ganz stimmen konnten. Behufs einer näheren Aufklärung der ganzen Frage schien es mir vor allen Dingen unentbehrlich, genauere Kenntnisse über den Vorgang des einfachen Sedimentirens zu sammeln. Deswegen stellte ich eine Reihe von Versuchen an, die mir einerseits einige bemerkenswerthe Thatsachen in Bezug auf die gegenseitigen Beziehungen des Plasmas und der rothen Blutkörperchen kennen lernen liessen, andererseits zu einer Auffassung über den Werth der M. und L. Bleibtreu'schen Methode und des Hämatokrits führten.

Alle meine Versuche wurden ausgeführt am Menschenblut, das mittelst Venaesection von gesunden und kranken Subjecten entnommen wurde; in parallelen Versuchen beobachtete ich die Sedimentation einerseits im defibrinirten und nicht defibrinirten, andererseits im unverdünnten und mit 0,6 % Kochsalzlösung in verschiedenen Verhältnissen verdünnten Blute. Die Sedimentation geschah in graduirten Cylindern von etwa 2—2,5 cm. Durchmesser; in jedes Cylinder wurde gewöhnlich 25 cbcm. Blut hineingethan. Zur Verhinderung der Blutgerinnung wurde Natriumoxalat in der Dose 0,025 bis 0,03 gr. für 25 cbcm. Blut gebraucht: das Mittel wurde entweder in Pulverform in den Cylinder gebracht, wenn das unverdünnte Blut beobachtet werden sollte, oder mit 5, 10, 25 cbcm. 0,6 % Kochsalzlösung vermischt, falls das Blut verdünnt werden musste. In beiden Fällen wurde das entströmende Blut zuerst in einen Porzellantiegel aufgefangen, dann aus demselben in die Cylinder mit Natriumoxalatpulver und physiologischer Kochsalzlösung mit Natriumoxalat rasch je 25 cbcm. Blut gegossen, endlich das Blut durch mehrmaliges Umrühren des mit Hypothenar geschlossenen Cylinders mit Natriumoxalat vermischt. Beim Gebrauch von Natriumoxalatpulver (0,06—0,1 %) gelingt es, die Blutgerinnung zu verhindern ebenso gut und vollständig, wie beim Gebrauch der Natriumoxalatlösung, die man gewöhnlich bei dieser Me-

thode zu verwenden pflegt. Dagegen ist dies nicht immer der Fall, wenn das Blut zu stark (z. B. im Verhältnisse 1:1) mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt ist: dabei sah ich einige Male kleinere Gerinnsel sich bilden.

Der andere Theil des Blutes wurde durch Schlagen defibrinirt, das Gerinnsel gut ausgepresst, und das Blut wieder in 3 Cylinder mit oder ohne 0,6 °/₀ Kochsalzlösung zertheilt. Somit wurden 6 Blutproben beobachtet: dies war natürlich nur dann der Fall, wenn dem Subjecte eine etwas grössere Blutquantität ohne Nachtheil entnommen werden konnte. Sonst füllte ich nur 2—4 Gefässe ein. Einige von diesen Blutproben untersuchte ich mit dem Hämatokrit sofort; ausserdem wurde in einer Portion des undefibrinirten Blutes der Gehalt an Trockensubstanz bestimmt. Die Cylinder liess ich an einem kühlen Orte stehen.

Die Trennung des Blutes in zwei scharf abgegrenzte Schichten, zwischen welchen eine schmale grauweisse Zone von weissen Blutkörperchen grösstentheils zu sehen ist, beginnt schon nach einer Stunde, die obere Plasmaschicht nimmt allmälig zu, während die Höhe des Blutkörperchenbodensatzes dementsprechend abnimmt, und es kommt endlich unter bestimmten unten zu erwähnenden Bedingungen zur Bildung einer Senkungsschicht rother Blutkörperchen, deren Grösse tagelang constant bleibt. Die Senkungsgeschwindigkeit der Körperchen und die Grösse des gebildeten Bodensatzes ist aber in den Cylindern nicht gleich trotz Anwendung gleicher Blutmengen. In beiden Beziehungen treten charakteristische Unterschiede zwischen dem nichtdefibrinirten, und defibrinirten, verdünnten und unverdünnten und in geringerem Grade zwischen dem normalen und pathologischen Blute.

Was zuerst die Schnelligkeit der Sedimentation betrifft, konnte Folgendes festgestellt werden:

1. Im nichtdefibrinirten Blute verläuft der Senkungsvorgang viel rascher, als im defibrinirten Blute. Während im ersten Falle das Absetzen der rothen Blutkörperchen schon in 6—8 Stunden fast zu Ende kommt und das constante Sediment sich durchschnittlich in 15—20,

in maximo in 24—30 Stunden bildet, so braucht dazu das defibrinirte Blut wenigstens 30 Stunden, gewöhnlich ca. 48 Stunden und nicht selten noch mehr. Nur ausnahmsweise sedimentirten sich die rothen Blutkörperchen von einigen pathologischen Fällen im defibrinirten Blute fast ebenso schnell, wie die im nichtdefibribinirten. Andererseits gibt es einen pathologischen Blutzustand, «Oligoplasmie» von mir genannt, wo umgekehrt der Senkungsprocess im undefibrinirten Blute ebenso langsam vor sich geht, wie dies in sonstigen normalen oder pathologischen defibrinirten Blutarten der Fall ist.

2. Im mit 0,6 % Kochsalzlösung verdünnten Blute setzen sich die Blutzellen langsamer ab, als im unverdünnten Blute, dabei desto langsamer, je stärker die Verdünnung ist. Dies gilt wieder hauptsächlich für das defibrinirte Blut; denn im nichtdefibrinirten, verdünnten Blute kommt es zur Bildung eines constanten Bodensatzes häufig fast zu derselben Zeit, wenigstens nicht viel später, als im unverdünnten Blute. Dagegen nimmt die Höhe der rothen Schicht in stärker verdünnten defibrinirten Blutproben (im Verhältnisse 100 Blut + 40 Na Cl-Lösung, 100 : 100) häufig noch nach 3, 4—5 Tagen etwas ab, wohl nicht bedeutend — 0,5 – 0,75 cbcm. in 12 Stunden. Dadurch konnte man aber von der Bildung constanter Senkungsschicht in derartigen Blutproben überhaupt nicht sprechen. Eigentlich habe ich die Bildung eines constanten Bodensatzes rother Blutkörperchen im defibrinirten und stärker verdünnten Blute nur bei der obenerwähnten Oligoplasmie einmal beobachtet.

Sonst ebenso im defibrinirten, wie im nichtdefibrinirten (verdünnten und unverdünnten) Blute, findet in der Regel die Thatsache statt, dass die Grösse des rothen Bodensatzes endlich vollkommen constant wird. Mitunter kommt eine Erscheinung zu Stande — und die gilt meistens, wenn nicht ausschliesslich für hydrämische Blutarten —, die die Bestimmung der Grösse des Sedimentes unmöglich macht: Zur Zeit, als der Senkungsprocess schon zu Ende kommt, d. h. als die Unterschiede der Sedimentsgrössen in 10—12 Stunden minimal werden, zeigen sich die untersten Plasma- resp. Serums-

schichten roth gefärbt. Mit anderen Worten, es findet ein Farbstoffaustritt aus den sich absetzenden Blutkörperchen statt. Diese Erscheinung habe ich im nicht defibrinirten Blute nur sehr selten wahrgenommen. Sie ist aber keine directe Folge der Verdünnung des Blutes, denn sie kommt zu Stande manchmal nur im unverdünnten oder schwächer verdünnten defibrinirten Blute, während die parallelen stärker verdünnten Proben keine Spur von Farbstoffaustritt noch zeigen; weiter ist sie auch keine Folge der übermässigen Dauer des Versuches und sonstiger äusseren Einflüsse. Einige Male wurden Blutproben von zwei Individuen zu gleicher Zeit angestellt und unter denselben Bedingungen beobachtet: nun die Erscheinung fand statt in einer Blutart schon nach 30—48 Stunden und in der anderen gar nicht.

Im defibrinirten Blute ist der Bodensatz im Beginn des Senkungsprocesses hellroth: allmälig wird diese Farbe ebenso dunkel, wie die des Bodensatzes im nicht defibrinirten Blute. Dieses Dunkelwerden beruht bekanntlich auf den im stehenden Blute sich abspielenden Oxydationsprocessen, was von Hoppe-Seyler[1]), Nawrocki[2]) und And. erwiesen worden ist.

In Bezug auf die Grösse der Senkungschicht liessen sich folgende Thatsachen feststellen:

1. Das defibrinirte Blut liefert gewöhnlich ein etwas grösseres Sediment, als dasselbe nichtdefibrinirte Blut. So z. B. betrug in einem Falle die Senkungsschicht in 25 cbcm. nichdefibr. Blutes 14 cbcm., und in 25 cbcm. desselben defibr. Blutes $16^1/_2$ cbcm. u. s. w.

2. Im verdünnten Blute ist das Sediment stets grösser als im unverdünnten (natürlich auf gleiche Mengen des ursprünglichen Blutes bezogen), und dabei desto grösser, je mehr dem Blute 0,6 % Kochsalzlösung zugesetzt worden ist. Dieser Schluss ist selbstverständlich nur auf Grund derjenigen Ver-

---

[1]) Hoppe-Seyler, Ueber die Oxydation im lebenden Blute. Medicinisch-chemische Untersuchungen. Berlin 1866, H. 1, S. 133.

[2]) Nawrocki, Studien der physiolog. Institutes zu Breslau, 1863, H. 2, S. 165.

suche gezogen, wo die Senkungsschichten rother Elemente im verdünnten Blute constant wurden, d. h. in Proben mit nichtdefibrinirtem Blute.

Ich möchte endlich in Bezug auf die absoluten Grössen der Sedimente im undefibrinirten und unverdünnten Blute hinzufügen, dass dieselben in normalen und pathologischen Blutarten trotz gleicher Blutkörperchenzahl häufig nicht gleich sind. Im normalen Blute mit etwa 5,000,000--5,200,000 Blutkörperchen in 1 cbmm. (nach Thoma Zeiss), 95—105 Färbekraft (nach Fleischl) und 21,5—22,5 % Trockensubstanz beträgt das Sedimentvolum der gesammten Blutkörperchen jedenfalls über 50 %—52 %, 56 %. Dieser Werth kann in hydrämischen Blutarten auf 30 %—20 % u. s. w. herabfallen. Bei intacter oder wenig veränderter Blutkörperchenzahl geht in hydrämischem Blute mit einem solchen Abfall eine beträchtliche Abnahme der Färbekraft des Blutes (auf 60—40) immer einher, sodass derartige Combination der Werthe des Zählapparates und des Hämometers umgekehrt auf die Abnahme des Sedimentvolums der rothen Blutzellen hinweist.

Die obigen Schlüsse sind aus folgenden Beobachtungen gezogen.

Versuch I[1]).

Das Blut wurde um 11 Uhr Morgens 11. IX. 93 einem gesunden robusten Individuum entnommen. Trockensubstanz = 22,4 %. Färbekraft mit v. Fleischl'schem Hämometer bestimmt = 95—100. Beginn des Versuches um 12 U. Die Cylinder I, II, III enthielten nicht defibr. Blut wegen Zusatz von je 0,025 gr. Natriumoxalat zu 25 cbcm. Blut. Die Cylinder IV, V, VI enthielten je 25 cbcm. defibrinirten Blutes. Das Blut in den Cylindern II und V wurde mit 5 cbcm. physiolog. Kochsalzlösung, das in den III. und VI. mit 25 cbcm. derselben versetzt.

---

[1]) In manchen von den folgenden Fällen wurde auch die Blutkörperchensubstanz auf N- und Fe-Gehalt quantitativ untersucht. Die Ergebnisse dieser Analyse sind in der Tab. F. in meiner obencitirten Arbeit zusammengestellt. Zeitschr. f. klin. Medicin, Bd. 24, H. 5 u. 6.

Die Zahlen in den Tabellen entsprechen der oberen Grenze des Bodensatzes und zeigen seine Grösse in cbcm.:

	Nichtdefibr. Blut.			Defibrin. Blut.		
	I. cbcm.	II. cbcm.	III. cbcm.	IV. cbcm.	V. cbcm.	VI. cbcm.
Zusatz von 0,6 % Na Cl-Lösung . .	—	5	25	—	5	25
Flüssigkeitsvolum	25	30	50	25	30	50
Senkungsschicht a. 11. IX. 6 U. Ab.	14½	15¼	18	19	27¾	47½
» a. 12. IX. 10 U. M.	14½	15	17½	17	24	43¾
» » 6 U. Ab.	14¼	14¾	16½	17	22¾	42
» a. 13. IX. 10 U. M.	14	14¾	16½	16¾	21¼	38½
» » 6 U. Ab.	14	14¾	16¼	16½	21*	37¼
» a. 14. IX. 10 U. M.	14	14¾	16¼	16½	20½*	35½
» » 6 U. Ab.	14	14¾	16	16½	20¼*	34½
» a. 15. IX. 10 U. M.	14	14¾	16	16½	20¼*	32¾
» » 6 U. Ab.	14	14¾	16	16½	20*	31¾*
Constantes Sedimentvolum auf 100 cbcm. Flüssigkeit berechnet . . .	56%	49,1%	32%	66%	?	?
Sedimentvolum auf 100 cbcm. ursprüngl. gebraucht. Blut. berechnet	56%	59%	64%	66%	?	?

Versuch II.

Normales Blut von einem 19jährigen Subjecte. Färbekraft n. v. Fleischl = 95—100, Trockensubstanz = 20,68 %. Beginn der Beobachtung 30. X. 93 um 12 U. Mor.

	Nichtdefibr. Blut.		Defibrin. Blut.	
	I. cbcm.	II. cbcm.	III. cbcm.	IV. cbcm.
Zusatz von 0,6 % Na Cl-Lösung	—	5	—	5
Flüssigkeitsvolum	26	30	24½	30
Senkungsschicht 30. X. 6 U. Ab.	13½	16	21½	27
» 31. X. 10 U. M...	13	15¾	17½	23
» » 6 U. Ab.	13	15½	16½	22
» 1. XI. 10 U. M.	13	15½	15½	19¾
» » 6 U. Ab.	13	15½	15½	19¼
Constant. Sedimentvol. auf 100 cbcm. Flüssig- berechnet	52%	51,6%	63,2%	?
Const. Sedimentvol. auf 100 cbcm. ursprüngl. Blutes berechnet	52%	61 %	63,2%	?

*) Bedeutet den Beginn des Farbstoffaustrittes, der im Cylinder II mit defibrinirtem und schwach verdünnten Blute am 13. IX. um 6 U. M., d. h. 24 Stunden nach dem Beginn des Versuches wahrgenommen wurde, im Cylinder IV dagegen erst nach 5 Tagen und 6 Stunden.

Versuch III.

Normales Blut von einem 28jährigen Subjecte. Zahl der rothen Blutkörperchen 5,235,000. Färbekraft nach v. Fleischl = 95—100. Trockensubstanz = 21,97 %. Beginn des Versuches 3. XI. 12 U. Morg.

	Nichtdefibr. Blut.		Defibrin. Blut.		
	I. cbcm.	II. cbcm.	III. cbcm.	IV. cbcm.	V. cbcm.
Zusatz von 0,6 % Na Cl-Lösung . . .	—	10	—	—	10
Flüssigkeitsvolum	26	35	25	25	30
Senkungsschicht 3. XI. 7 U. Ab. . .	14½	15½	16½	16½	30½
» 4. XI. 10 U. M. . .	14	15½	15½	15½	24
» » 7 U. Ab. . .	14	15½	15	15	22
» 5. XI. 10 U. M. . .	14	15½	15	15	21
» » 6 U. Ab. . .	14	15½	15	15	20½
» 6. XI. 10 U. M. . .	14	15½	15	15	19½
Sedimentvol. auf 100 cbcm. Flüssigk. berechnet	53,8%	44,3%	60%	60%	?
Sedimentvol. auf 100 cbcm. ursprüngl. Blut berechnet	53,8%	62%	60%	60%	?

Versuch IV.

Alle Cylinder wurden mit defibrinirtem Blute von Färbekraft = 80 n. Fleischl gefüllt. Beginn: 28. VIII. 12 U. M.

	I. cbcm.	II. cbcm.	III. cbcm.	IV. cbcm.	V. cbcm.
Zusatz von 0,6 % Na Cl-Lösung . . .	—	2½	5	12½	25
Flüssigkeitsvolum	25	27½	30	37½	50
Senkungsschicht 28. VIII. 7 U. Ab. .	14¼	17	20¾	32	46½
» 29. VIII. 10 U. M. .	14	15¾	17½	25¾	41
» » 6 U. Ab. .	13¾	15½	17¼	24	38
» 30. VIII. 10 U. M. .	13¾	15¼	16¾	21½*	33
» » 6 U. Ab. .	13¾	15¼	16½	20½*	30¼
» 31. VIII. 10 U. M. .	13¾	15¼	16½	20*	27
» » 6 U. Ab. .	13¾	15¼	16½	19½*	26*
Constant. Sedimentvol. auf 100 cbcm. Flüssigk. berechnet	55%	55,4%	55%	?	?
Constant. Sedimentvol. auf 100 cbcm. ursprüngl. Blut berechnet	55%	61%	66%	?	?

Versuch V.

Blut von einem chronisch. Nephritiker. Färbekraft = 55. Trockensubstanz = 18,61 %. Beginn: 4. IX. 93 12 U. M. Nur defibrin. Blut. In den Gefässen V und VI wurde das Blut gleichzeitig mit anderen Cylindern mit 0,6 % Na Cl vermischt, im VII. dagegen 1½ St. später.

	I. cbcm.	II. cbcm.	III. cbcm.	IV. cbcm.	V. cbcm.	VI. cbcm.	VII. cbcm.
Zusatz von 0,6 % Na Cl-Lösung	—	2½	5	12½	25	25	25
Flüssigkeitsvolum	25	27½	30	37½	50	50	50
Senkungsschicht 4. IX. 6 U. Ab.	19	21¾	25	34½	46¾	46¼	45
» 5. IX. 10 U. M.	15½	17½	18¾	27¾	40¾	40	35*
» » 6 U. Ab.	14¼	16	16¾	24	37	36¼	30½*
» 6. IX. 10 U. M.	14	15	15¾	20	31½	36½	23*
» » 6 U. Ab.	13¾	15	15½*	19*	28½	28	20*
» 7. IX. 10 U. M.	13¾	14¾	15*	18*	24	23½	—
» » 6 U. Ab.	13¾	14¾	14¾*	17*	24*	22½	—
Constant. Sedimentvol. auf 100 cbcm. Flüssigk. berechnet .	55 %	53,6 %	?	?	?	?	—
Constant. Sedimentvol. auf 100 cbcm. ursp. Blut berechnet	55 %	59 %	—	—	—	—	—

Versuch VI.

Tuberculosis pulmon. Färbekraft = 65. Blutkörperchenzahl = 5,125,000. Trockensubstanz = 18,16 %. Beginn des Versuches: 10. XI. 12 U. M.

	Nichtdefibr. Blut.		Defibrin. Blut.	
	I. cbcm.	II. cbcm.	III. cbcm.	IV. cbcm.
Zusatz von 0,6 % NaCl-Lösung	—	10	—	10
Flüssigkeitsvolum	28	35	25	35
Senkungsschicht 10. XI. 7 U. Ab.	17	13½	12	17
» 11. XI. 10 U. M.	13½	13	12	15
» » 6 U. Ab.	13	12½	11½	14½
» 12. XI. 10 U. M.	13	12½	11½	14
» » 6 U. Ab.	13	12½	11½	13¾
Const. Sedimentvol. auf 100 cbcm. Flüssigkeit berechnet	46,4 %	35,2 %	46 %	?
Const. Sedimentvol. auf 100 cbcm. Blut berechnet	46,4 %	50,0 %	46 %	?

Versuch VII.

Chronische Nephritis. Färbekraft = 65. Trockensubstanz = 19,11 %. Beginn: 15. XI. 12 U. M.

	Nichtdefibr. Blut.		Defibrin. Blut.	
	I. cbcm.	II. cbcm.	III. cbcm.	IV. cbcm.
Zusatz von 0,6 % NaCl-Lösung	—	10	—	10
Flüssigkeitsvolum	25	37	25	35
Senkungsschicht 15. XI. 6 U. Ab.	12	17 1/4	18	30
» 16. XI. 10 U. M.	11 3/4	16 3/4	14 3/4	22 1/2
» » 6 U. Ab.	11 3/4	16 1/2	14	19 1/2
» 17. XI. 10 U. M.	11 3/4	16 1/2	13 1/2	17 1/2
» » 7 U. Ab.	11 3/4	16 1/2	13 1/4	16 1/2
» 18. XI. 10 U. M.	—	—	13	15 1/2
» » 7 U. Ab.	—	—	12 3/4	15
» 19. XI. 10 U. M.	—	—	12	14 1/2
Const. Sedimentvol. auf 100 cbcm. Flüssigkeit berechnet	47 %	44,5 %	?	?
Const. Sedimentvol. auf 100 cbcm. urspr. Blut berechnet	47 %	61,1 %	?	?

Versuch VIII.

Vitium cordis. Aneurysma aortae. Compensationsstadium. Blutkörperchenzahl = 4,512,500. Färbekraft des Blutes = 60. Trockensubstanz = 19,53 %.

	Nichtdefibr. Blut.		Defibrin. Blut.			
	I. cbcm.	II. cbcm.	III. cbcm.	IV. cbcm.	V. cbcm.	VI. cbcm.
Zusatz von 0,6 % NaCl-Lösung	—	25	—	—	10	25
Flüssigkeitsvolum	25	50	25	25	35	50
Senkungsschicht 27. XI. 6 U. Ab.	14	18	20 3/4	20 3/4	32	46 1/2
» 28. XI 10 U. M.	13 1/2	17 1/2	17 1/2	16 1/2	27	41
» » 6 U. Ab.	13 1/2	17 1/4	16 1/2	16,0	24 1/2	38 1/2
» 29. XI. 10 U. M.	13 1/2	17	16,0	15 1/2	20 1/2	33 1/2
» » 6 U. Ab.	13 1/2	16 1/2	15 1/2	15 1/2	20 1/2	32
» 30. XI. 10 U. M.	—	16 1/2	15 1/2	15 1/2	19 1/2	28 1/2
» » 6 U. Ab.	—	16 1/2	15 1/2	—	18 1/2*	27 1/2
» 1. XII. 10 U. M.	—	—	—	—	18*	24 1/2*
Const. Sedimentvol. auf 100 cbcm. Flüssigk. berechnet	54 %	33 %	62 %	62 %	?	?
Const. Sedimentvol. auf 100 cbcm. Blut berechnet	54 %	66 %	62 %	62 %	?	?

Versuch IX.

Anaemia nephritica. Färbekraft = 65. Trockensubstanz = 19,46 %. Beginn: 17. XI. 12 U. M.

	Nichtdefibr. Blut.		Defibrin. Blut.
	I. cbcm.	II. cbcm.	III cbcm.
Zugesetzt 0.6 % Na Cl-Lösung	—	10	—
Flüssigkeitsvolum	27	35	25
Senkungsschicht 17. XI. 6 U. Ab. ...	13,0	14,0	$13^1/_2$
» 18. XI. 10 U. M. ...	$12^3/_4$	$13^3/_4$	$12^1/_2$
» » 6 U. Ab. ...	$12^3/_4$	$13^3/_4$	$12^1/_4$
» 19. XI. 10 U. M. ...	$12^3/_4$	$13^3/_4$	12,0
» » 6 U. Ab. ...	$12^3/_4$	$13^3/_4$	12,0
Constant. Sedimentvol. auf 100 cbcm. Flüssigkeit berechnet	47,2%	39,2%	48,0%
Constant. Sedimentvol. auf 100 cbcm. ursprüngl. Blut berechnet	47,2%	55%	48,8%

Versuch X.

Leicht hydrämisches Weib von 32 J. Blutkörperchenzahl = 4,858,300. Färbekraft = 85. Trockensubstanz = 19,83 %. Das Cylinder IV war zweimal enger (etwa $1^1/_4$—$1^1/_2$ cm. Durchmesser), als die sonstigen. Beginn: 8. XII. 12 U. M.

	Nichtdefibr. Blut.		Defibrin. Blut.			
	I. cbcm.	II. cbcm.	III. cbcm.	IV. cbcm.	V. cbcm.	VI. cbcm.
Zusatz von 0,6 % Na Cl-Lösung	—	10	—	—	10	25
Flüssigkeitsvolum	$24^1/_2$	35	25	25	35	50
Senkungsschicht 8. XII. 6 U. Ab.	$12^1/_2$	22	$22^1/_2$	$22^1/_2$	$31^1/_2$	48
» 9. XII. 10 U. M.	$11^3/_4$	$16^1/_2$	$17^1/_4$*	$18^1/_2$*	25*	48*
» » 6 U. Ab.	$11^3/_4$	15	$16^1/_4$*	17*	$22^1/_2$*	39*
» 10. XII. 10 U. M.	$11^3/_4$	$15^1/_2$*	$15^1/_4$*	17*	$19^3/_4$*	$34^1/_2$*
» » 6 U. Ab.	$11^3/_4$	$15^1/_4$*	15*	$15^1/_2$*	19*	32*
Constant. Bodensatz	47,9%	?	?	?	?	?

Versuch XI.

Hysteriasis. Anaemia. Weib 24 J. Färbekraft = 60. Trockensubstanz = 20,54 %. Beginn: 21. XI. 12 U. M.

	Nichtdefibr. Blut. I. cbcm.	Defibrin. Blut. II. cbcm.	III. cbcm.
Zusatz von 0,6 % NaCl-Lösung	—	—	10
Flüssigkeitsvolum	51	25	35
Senkungsschicht 21. XI. 6 U. Ab....	28	$18^1/_2$	32
» 22. XI. 10 U. M.....	27	$15^3/_4$	$26^1/_2$
» » 6 U. Ab....	27	$15^1/_4$	24
» 23. XI. 10 U. M......	27	15	$21^1/_2$
» » 6 U. Ab....	27	$14^1/_2$	21
» 24. XI. 10 U. M.....	—	$14^1/_2$	$19^1/_2$
» » 6 U. Ab....	—	$14^1/_2$	19
» 25. XI. 10 U. M.....	—	$14^1/_2$	$18^1/_2$
Constant. Sedimentvol.	53 %	58%	?

Versuch XII.

Emphysema. Leichte Hydrämie. Blutkörperchenzahl = 5,850,000. Färbekraft = 90. Trockensubstanz = 19,84 %. Beginn: 16. XII. 12 U. M.

	Nichtdef. Blut. I. cbcm.	Defibrin. Blut. II. cbcm.	III. cbcm.	IV. cbcm.
Zusatz von 0,6 % NaCl-Lösung	—	—	10	25
Flüssigkeitsvolum	$28^1/_2$	25	35	50
Senkungsschicht 16. XII. 6 U. Ab...	$16^1/_2$	$22^3/_4$	$32^1/_2$	48
» 17. XII. 10 U. M. ..	$15^3/_4$	$18^1/_2$	30	$44^3/_4$
» » 6 U. Ab...	$15^3/_4$	$17^1/_2$	29	43
» 18. XII. 10 U. M. ..	$15^3/_4$	$16^3/_4$	$26^3/_4$	$40^1/_4$
» » 6 U. Ab. .	$15^3/_4$	16*	$24^1/_4$*	$35^3/_4$*
» 19. XII. 10 U. M. ..	—	$15^3/_4$*	$23^3/_4$*	$35^1/_2$*
Constant. Sediment.	55,2%	?	?	?

Versuch XIII.

Chronische Lungentuberculose. Blutkörperchenzahl = 4,933,000. Färbekraft = 65. Trockensubstanz = 17,61 %. Beginn: 4. XII. 12 U. M.

	Nichtdefibr. Blut. I. cbcm.	Defibrin. Blut. II. cbcm.	Defibrin. Blut. III. cbcm.
Zusatz von 0,6 % Na Cl-Lösung . . .	—	—	9
Flüssigkeitsvolum	23	26	18 (9 + 9)
Senkungsschicht 4. XII. 6 U. Ab. .	11 1/2	13,0	11
» 5. XII. 10 U. M. . .	10 1/2	12,0	6 1/2
» » 6 U. Ab. .	10 1/2	12,0	5 3/4
» 6. XII. 10 U. M. . .	10 1/2	11 3/4	4 1/2
» » 6 U. Ab. .	10 1/2	11 3/4	5 1/4
Constant. Sedimentvol.	40,3 %	45,1 %	?

Versuch XIV.

Lungentuberculose. Färbekraft = 45. Blutkörperchenzahl = 4,825,000. Trockensubstanz = 17,89 %. Beginn: 5. XII. 93. 12 U. M.

	Nichtdefibr. Blut. I. cbcm.	Defibrin. Blut. II. cbcm.	Defibrin. Blut. III. cbcm.
Zusatz von 0,6 % Na Cl-Lösung . . .	—	—	18
Flüssigkeitsvolum	29	26	36 (18 + 18)
Senkungsschicht 5. XII. 6 U. Ab. .	10 3/4	10 1/4	—
» 6. XII. 10 U. M. . .	10 1/2	9 1/2	14 1/2
» » 6 U. Ab. .	10 1/4	9 1/2	12.0
» 7. XII. 10 U. M. . .	10 1/4	9 1/4	10 1/4
» » 6 U Ab. .	10 1/4	9 1/4	9*
Constant. Sedimentvol. auf 100 cbcm. Flüssigkeit resp. Blut berechnet .	35,3 %	35,5 %	?

Im Versuche X wurde eine Portion defibrinirten Blutes in einem engen Cylinder zur Sedimentation gelassen; der Senkungsprocess zeigte gewisse, wohl nicht bedeutende Unterschiede von demselben in einem zweimal breiteren Cylinder. Dieses

abweichende Verhalten konnte aber nicht so ohne Weiteres auf den Einfluss des Gefässes zurückgeführt werden, denn z. B. im Versuche VIII war der Verlauf der Sedimentation in zwei gleichen Cylindern mit defibrinirtem Blute nicht absolut identisch, obgleich die constanten Endsedimente von gleicher Grösse wurden. Im diesbezüglichen Versuche mit verdünntem defibrinirten Blute verlief aber der Senkungsprocess in engem Gefässe langsamer, als im breiten Cylinder. Anders weisen dabei einige sonstige Versuche darauf hin, dass die Sedimentation im stark verdünnten defibrinirten Blute zu eigenthümlichen Schwankungen sehr geneigt ist. So z. B. im Versuche V setzten sich die Blutkörperchen im defibrinirten Blute, das 1 $^1/_2$ Stunden später als sonst mit der 0,6 % Kochsalzlösung verdünnt wurde, viel schneller ab, als im früher verdünnten Blute. Auch zeigte dieses später verdünnte Blut sehr bald darauf den Farbstoffaustritt, der in der parallelen Blutportion gar nicht stattgefunden hat. In einem anderen Versuche (s. unter Vers. XVI) vollzog sich der Senkungsprocess im verdünnten Blute grösstentheils im Laufe der ersten 7 Stunden, trotz allgemeiner Regel.

Versuch XV.

Chronische Nephritis. Färbekraft = 50. Blutkörperchenzahl = 3,675,000. Trockensubstanz = 15,29 %. Die Cylinder III und VI waren zweimal enger, als die sonstigen. Beginn am 6. XII. 93 um 12 U. M.

	Nicht-defibr. Blut.	Defibrin. Blut.				
	I. cbcm.	II. cbcm.	III. cbcm.	IV. cbcm.	V. cbcm.	VI. cbcm.
Zusatz von 0,6 % Na Cl-Lösung	—	—	—	10	25	25
Flüssigkeitsvolum	28	25	25	35	50	50
Senkungschicht 6. XII. 6 U. Ab.	$11^1/_2$	$16^1/_2$	17	29	44	$47^1/_2$
» 7. XII. 10 U. M.	11,0	14	$12^1/_2$	$19^1/_2$	31	39
» » 6 U. Ab.	$10^3/_4$	$12^1/_2$	$11^3/_4$	17	$25^1/_2$	34
» 8. XII. 10 U. M.	$10^3/_4$	12	$11^1/_4$	$14^1/_4$	$17^1/_2$	25
» » 6 U. Ab.	$10^3/_4$	$11^3/_4$	$10^3/_4$	$13^3/_4$	$15^1/_2$	$22^1/_2$

Versuch XVI.

Nephritische Anaemie. Färbekraft = 60. Blutkörperchenzahl = 3,650,000. Trockensubstanz = 20,06 %. Das Cylinder III war zweimal enger, als die sonstigen. Beginn: 5. I. 94. 12 U. M.

	Nichtdefibr. Blut.	Defibrin. Blut.		
	I. cbcm.	II. cbcm.	III. cbcm.	IV. cbcm.
Zusatz von 0,6 % NaCl-Lösung	—	—	—	25
Flüssigkeitsvolum	32	25	25	50
Senkungsschicht 5. I. 6 U. Ab.	17 1/2	21	16 1/2	26 1/2
» 6. I. 10 U. M..	15 1/2	13 1/2	13	20
» » 6 U. Ab.	15 1/2	13,0	12 1/2	18 3/4
» 7. I. 10 U. M..	15 1/4	12 1/2	12	17 1/2
» » 6 U. Ab.	15 1/4	12 1/2	12	16 1/2

Einige Versuche wurden zu einer näheren Aufklärung des Unterschiedes angestellt, den das constante Sedimentsvolum des defibrinirten Blutes im Vergleich mit demselben des nichtdefibrinirten hinsichtlich der Grösse fast durchweg zeigte. Vor allen Dingen liess ich einige Male das verdünnte oder unverdünnte Blut im Cylinder spontan gerinnen; nach 2—3 Tagen, als das rundliche Gerinnsel keine auffallende Abnahme seines Volums mehr zeigte, wurde das Serum abgegossen und gemessen. Nun war dessen Quantität in allen diesbezüglichen gelungenen Versuchen der Menge des Plasmas im nicht geronnenen Blute (d. h. im Blute mit Zusatz von Natriumoxalat) fast absolut gleich, und dementsprechend grösser, als die Serummenge über der Senkungsschicht des defibrinirten Blutes. Ich sage «gelungen», denn in zahlreichen sonstigen Versuchen bildete sich kein festes Gerinnsel und neben demselben lag am Boden des Gefässes eine Senkungsschicht rother Blutkörperchen, wodurch das Abgiessen und genaues Messen des Serums unmöglich war.

In der folgenden Tabelle unter I ist die abgegossene Serummenge aus dem geronnenen Blute, unter II Plasmamenge im nichtdefibrinirten Blute, unter III Serummenge

im defibrinirten Blute — Alles auf 100 cbcm. Flüssigkeit berechnet — bezeichnet.

	I. cbcm.	II. cbcm.	III. cbcm.	
Unverdünntes Blut	48	48	38	(Versuch II).
Verdünntes Blut (100:20)	51,7	48,4	38,4	(Ders. Vers.).
Verdünntes Blut (100:40)	54,3	55,7	44,3	(Versuch III).

Somit übt das Verhindern der Blutgerinnung mittelst Natriumoxalat keinen Einfluss auf die sich während der Sedimentation abscheidende Menge der Blutflüssigkeit aus, bzg. das Verhindern der Blutgerinnung auf diese Weise ist keine Ursache davon, dass das Sedimentvolum im nichtdefibrinirten Blute kleiner ist, als der Bodensatz rother Blutkörperchen im defibrinirten Blute.

Es blieb noch zu entscheiden übrig, wieviel das Defibriniren selbst in dieser Beziehung von Bedeutung ist. Schon längst hat man darauf aufmerksam gemacht, dass das defibrinirte Blut nicht selten einen höheren Concentrationsgrad aufweist, als das nichtdefibrinirte, sowohl in Bezug auf Hämoglobingehalt, als auch in Bezug auf Trockensubstanz (Götschel[1]), Kupffer[2]). Auch M. und L. Bleibtreu[3]) fanden bei ihren Untersuchungen, dass das Blut durch den Process des Defibrinirens in vielen Fällen eine Zunahme seines Gehaltes an Stickstoff zeigt[4]). Die Verfasser erklären diese bemerkenswerthe Erscheinung mit dem Umstande, dass infolge der Ausscheidung der Trockensubstanz die Zwischenflüssigkeit einen Verlust an ihrem Volum erleidet, wodurch auch das defibrinirte Blut an wasserarmen Blutkörperchen relativ reicher unter Umständen wird, als das nichtdefibrinirte.

[1]) E. v. Götschel, Vergleichende Analyse des Blutes gesunder und septisch inficirter Schafe. Diss. Dorpat 1883.

[2]) F. Kupffer. Analyse septisch inficirten Hundeblutes. Diss. Dorpat 1884.

[3]) M. und L. Bleibtreu, loc. cit., Anhang, S. 223.

[4]) Vgl. auch: H. J. Hamburger, Vergleichende Untersuchungen von arteriell. und venösem Blute und über den bedeutenden Einfluss der Art des Defibrinirens auf die Resultate von Blutanalysen. Archiv f. Anatomie und Physiologie. Physiol. Abth., Suppl. 1893, S. 157.

In Uebereinstimmung mit dieser Meinung habe ich thatsächlich in zwei Fällen in 1 cbmm. defibrinirten Blutes etwas mehr Blutkörperchen gefunden, als in 1 cbmm. entsprechenden nichtdefibrinirten.

	Blutkörperchen in 1 cbmm.	
	Nichtdefibrin. Blut.	Defibrin. Blut.
Versuch XIII . .	4,512,500	4,666,000
Versuch XV . .	3,675,000	3,787,500

Im dritten Falle war dagegen das defibrinirte Blut an Blutzellen relativ ärmer, als das nicht defibrinirte.

	Blutkörperchen in 1 mm.	
	Nichtdefibrin. Blut.	Defibrin. Blut.
Versuch X.....	4,858,300	4,750,000

Trotzdem war das Sedimentvolum in diesem Falle, wie in den zwei ersteren im defibrinirten Blute grösser (ca. 60%), als im nicht defibrinirten (47,9%).

Auch die Zählung der Blutkörperchen im Bodensatze selbst ergab, dass der relative Reichthum des defibrinirten Blutes an Körperchen bei der in Rede stehenden Erscheinung keine Grundrolle spielen kann. Falls das grössere Sedimentvolum im defibrinirten Blute nur von dessen Zunahme an körperlichen Elementen herrührte, so würde man in 1 cbmm. der Senkungsschicht des defibrinirten Blutes gleiche Blutkörperchenzahl, wie in 1 cbmm. des Bodensatzes des nichtdefibrinirten erwarten müssen. Dagegen habe ich im ersten Falle weniger Blutzellen als im zweiten bestimmt.

		In 1 cbmm.	
		Bodensatz des defibrin. Blutes.	Bodensatz des nichtdefibrin. Blutes.
Vers. II.	Unverdünntes Blut	9,568,750	10,531,250
	Verdünntes Blut (100:40).	8,887,500	9,475,000

In Bezug auf den auffallenden Unterschied in der Schnelligkeit der Sedimentation, die das defibrinirte Blut gegenüber dem nichtdefibrinirten zeigte, konnte die Frage nicht unberücksichtigt gelassen werden, ob in dieser Beziehung der höhere

Gehalt an O im defibrinirten Blute nicht von Bedeutung ist. Desswegen habe ich in einem Versuche das dunkle, nicht geronnene (mit Zusatz von Natriumoxalat) Blut so lange geschüttelt, bis es ebenso hellroth, wie das entsprechende defibrinirte wurde; und andererseits in zwei Versuchen durch das hellrothe defibrinirte Blut CO_2 so lange durchgelassen, bis die Blutfarbe ebenso dunkel wurde, wie die des nichtdefibrinirten Blutes. Es sei erwähnt, dass die hellrothe Farbe im nichtdefibrinirten Blute viel rascher in die dunkle überging, als dies im defibrinirten Blute der Fall zu sein pflegte; und zweitens, dass das Plasma im geschüttelten nichtdefibrinirten Blute sich immer leicht hämoglobinämisch erwies.

Die Resultate dieser Versuche fielen aber fast ganz negativ aus: im hellen nichtdefibrinirten Blute verlief der Senkungsprocess ebenso schnell wie im dunklen, und im dunklen defibrinirten Blute ebenso langsam wie im hellen; dabei erwies sich das Sedimentvolum im dunklen defibrinirten Blute grösser, als im hellrothen.

Versuch XVII.

Normal. Blut. Färbekraft = 100. Trockensubstanz 21,82 %. In Cylindern II und IV wurde das Blut nach dem Abmessen und Versetzen mit 0,025 Natriumoxalat mittelst Schütteln und Schlagen hellroth gemacht; in die Cylinder VI und VII CO_2 durchgelassen, bis die Blutfarbe im Cylinder VI schwach dunkel und im VII so dunkel wie die Blutfarbe im im Cylinder I wurde. Beginn: 6. XI. 93. 12 U. M.

	Nichtdefibrin. Blutes.				Defibrin. Blut.		
	I. cbcm.	II. cbcm.	III. cbcm.	IV. cbcm.	V. cbcm.	VI. cbcm.	VII. cbcm.
Zusatz von 0,6% NaCl-Lösung	—	—	10	10	—	—	—
Flüssigkeitsvolum	26	25	35	35	25	25	25
Senkungsschicht 6. XI. 6 U. Ab.	16,0	14 1/2	26 1/2	26	21	24	24
» 7. XI. 10 U. M.	15,0	14,0	22	21 1/2	17	17 1/2	20
» » 6 U. Ab.	15,0	14,0	21	20 1/4	16 1/2	16 1/2	19 1/2
» 8. XI. 10 U. M.	15,0	14,0	20 1/4	19,0	15 1/2	16,0	18,0
» » 6 U. Ab.	15,0	14,0	19 3/4	19,0	15 1/2	16,0	18,0
» 9. XI. 10 U. M.	—	—	19 1/4	18 3/4	15 1/2	16,0	18,0
» » 6 U. Ab.	—	—	19,0	18 1/4	15 1/2	—	18,0
Constantes Sedimentvolum . .	57,6%	56%	?	?	62%	64%	72%

Versuch VII (bis).

Die Versuchsanordnung s. oben S. 190.

	Defibrin. Blut.		Defibrin. Blut + CO_2.	
	III. cbcm.	IV. cbcm.	V. cbcm.	VI. cbcm.
Zusatz von 0,6 % NaCl-Lösung	—	10	—	10
Flüssigkeitsvolum	25	35	25	35
Senkungschicht 15. XI. 6 U. Ab.	18,0	30	$20^1/_2$	32
» 16. XI. 10 U. M.	$14^3/_4$	$22^1/_2$	16	$26^1/_2$
» » 6 U. Ab.	14	$19^1/_2$	$15^1/_2$	$23^1/_2$
» 17. XI. 10 U. M.	$13^1/_2$	$17^1/_2$	$14^1/_2$	20
» » 6 U. Ab.	$13^1/_4$	$16^1/_2$	$14^1/_2$	20
» 18. XI. 10 U. M.	13	$15^1/_2$	14	$18^1/_2$
» » 6 U. M.	$12^3/_4$	15	14	18
» 19. XI. 10 U. Ab.	$12^1/_2$	$14^1/_2$	14	17 $/_2$
Constantes Sedimentvolum . .	?	?	56%	?

Im Versuche III habe ich, nachdem sich im nichtdefibrinirten und verdünnten Blute constanter Bodensatz von $15^1/_2$ cbcm. in 24 Stunden gebildet hat, denselben mit zugehörigem Plasma im Cylinder wieder vermischt, das Gemisch bis zum Hellrothwerden der Flüssigkeit geschüttelt und es dann stehen gelassen. Nach 36 Stunden setzten sich die Blutkörperchen vollständig ab; das constante Sediment war aber grösser ($17^1/_2$ cbcm.) als das ursprüngliche.

Somit konnte aus diesen Versuchen keine Deutung für die in Rede stehenden Erscheinungen gefolgert werden. Dass aber dieselben eine natürliche Folge des Defibrinirens waren und mit dem Mangel, resp. Armuth des defibrinirten Blutes an Fibrinogenen im directen Zusammenhang standen, dafür lieferte die Beobachtung des «oligoplasmischen» Blutes an sich einen lehrreichen Beweis.

Unter dem Namen «Oligoplasmie» habe ich[1]) einen eigenthümlichen Blutzustand beschrieben, wo bei normaler oder unbedeutend vermindeter Blutkörperchenzahl und normaler

[1]) E. Biernacki, loc. cit. Ausführlich. Untersuchungen über die chemische Beschaffenheit bei pathologischen, insbesondere bei anämischen Zuständen. Zeitschr. f. klin. Medicin, Bd. 24, H. 5 u. 6.

oder fast normaler Färbekraft des Blutes die Senkungsschicht der rothen Zellen viel grösser ist, als in der Norm, also statt 50—56 %—75, 65, 80 % beträgt. Diese Erscheinung ging in meinen Beobachtungen mit Zunahme des durchschnittlichen Diameters rother Blutzellen immer einher; im frisch untersuchten venösen, nicht geronnenem oder defibrinirten Blute zeigten dieselben Alle, oder fast Alle durchweg Durchmesser 10 μ statt normalen 7,5 μ, 8,5 μ.

Die Oligoplasmie habe ich bisher 6 Mal bei verschiedenen Kranken gesehen, die meistens junge Leute im Alter von 25—30 Jahren, von gutem Körperbau und normalem Aussehen waren, also bei Neurasthenie mit Hyperacidität, nervöser Dyspepsie, beginnender Lungentuberkulose, spastischer Paraparese, ausserdem in einem Falle von Lebertumor und einem anderen von Herzfehler im Dyscompensationsstadium. Der Trockenrückstand und der Gehalt an Cl, K, Na, Fe zeigten sich ganz normal oder sehr wenig von der Norm abweichend (im Sinne der Hydrämie).

Die wesentlichste chemische Abnormität des oligoplasmischen Blutes scheint, wie mir die Beobachtung von drei letzteren Fällen zeigt, Mangel oder Armuth an Fibrinogenen zu sein. Das oligoplasmische Blut zeigt sehr wenig Neigung zu Gerinnung und lässt sich sehr schwer defibriniren, so dass erst nach längerem Schlagen (15—20 Minuten) ein ganz kleines Fibrinflöckchen herauszuholen ist. Dabei schäumt es ausserordentlich und der Schaum kann mitunter stundenlang festbleiben.

Nun, wie schon einmal erwähnt, zeigt der Senkungsprocess im nicht defibrinirten oligoplasmischen Blute diejenigen Eigenschaften, die sonst dem defibrinirten Blute eigen sind. Also, er verläuft ebenso langsam wie im letzteren, und die Senkungsschicht ist trotz normaler Blutkörperchenzahl grösser als in der Norm.

Nichtsdestoweniger verhält sich das defibrinirte oligoplasmische Blut, wie jedes andere nicht defibrinirte: der Senkungsprocess vollzieht sich noch langsamer, als in entsprechendem nicht defibrinirten Blute, und ist auch das Sediment grösser, als im letzteren. Die Unterschiede in dieser Beziehung treten

dabei noch ausgeprägter hervor als sonst: die abgeschiedenen Serumquantitäten können ninimal sein. So hat sich in einem Falle aus 25 cm. defibrinirten Blutes blos ein Cubikcentimeter Serum angesammelt.

Versuch XVIII.

Lebertumor bei einem 60jährigen Weibe. Färbekraft = 95. Trockensubstanz = 22,3 %. Beginn 20. XI. 12 U. M.

	Nichtdefibr. Blut. I. cbcm.	Defibr. Blut. II. cbcm.
Unverdünntes Blut. Flüssigkeitsvolum . .	25	25
Senkungsschicht 20. XI. 6 U. Ab. . . .	43 1/2	24
» 21. XI. 10 U. M. . . .	39	24
» » 6 U. Ab. . . .	38 3/4	23 3/4
» 22. XI. 10 U. M. . . .	38 3/4	23 3/4
» » 6 U. Ab. . . .	38 3/4	23 3/4
» 23. XI. 10 U. M. . . .	38 3/4	23 3/4
Constantes Sedimentsvolum	77,5 %	95 %

Versuch XIX.

Herzfehler. Oedeme mittleren Grades. Blutkörperchenzahl in 1 cbmm. 4,500,000. Trockensubstanz = 19,19 %. Färbekraft = 90. Beginn: 29. XI. 12 U. M.

	Nichtdef. Blut.	Defibrin. Blut.		
	I. cbcm.	II. cbcm.	III. cbcm.	IV. cbcm.
Zusatz von 0,6 % Na Cl-Lösung . .	—	—	10	25
Flüssigkeitsvolum	26	25	35	50
Senkungsschicht 29. XI. 6 U. Ab. .	17	24 1/4	33 3/4	48 3/4
» 30. XI. 10 U. M. .	15 1/2	12 1/4	31 1/4	45 1/4
» » 6 U. Ab. .	15 1/2	21 1/4	30	44 1/4
» 1. XII. 10 U. M. .	15 1/2	19 1/2	28	41 1/4
» » 6 K. Ab. .	—	19	27 1/4	40
» 2. XII. 10 U. M. .	—	18	26 1/2	37
» » 6 U, Ab. .	—	17 3/8	24 3/4	35 3/4
» 3. XII. 10 U. M. .	—	17 1/2	23 1/2	33 1/2
» » 6 U. Ab. .	—	17 1/2	23 1/4	32 3/4
Constantes Sedimentvolum	60 %	70 %	?	?

Versuch XX.

Spastische Parese. Färbekraft = 95. Beginn des Versuches 21. VIII. 93. Nur defibrinirtes Blut angewendet.

	I. cbcm.	II. cbcm.	III. cbcm.	IV. cbcm.	V. cbcm.
Zusatz von 0,6 % Na Cl-Lösung .	—	2½	5	12½	25
Flüssigkeitsvolum	25	27½	30	37½	50
Senkungsschicht 22. VIII. 6 U. Ab.	18¾	21	22¾	29¾	40½
» 23. VIII. 10 U. M. .	18	20	21½	26¾	36
» 25. VIII. 10 U. M. .	18	20	21½	26¾	36
» » 6 U. Ab.	18	20	21½	26¾	36
Constantes Sedimentvol. auf 100 cbcm. Flüssigkeit berechnet	72%	72,7%	71,6%	72,3%	72,7%

In diesem (XX.) Versuche fiel vor allen Dingen auf, dass sich in allen verdünnten Blutportionen constante Sedimente bildeten, und zweitens war die Erscheinung höchst bemerkenswerth, dass die Sedimentvolumina auf 100 cbcm. Flüssigkeit berechnet, sich ganz gleich erwiesen. Mit anderen Worten: das verdünnte Blut verhielt sich in diesem Falle in Bezug auf gegenseitige quantitative Volumverhältnisse zwischen den Blutzellen und dem Serum ganz auf dieselbe Weise, wie das Mutterblut.

Dieselbe Erscheinung fand, auch im Versuche XIX in den ersten Tagen des Senkungsprocesses statt: später nahm das Blutkörperchenvolum in zwei verdünnten Proben im Vergleich mit der unverdünnten ab.

	Auf 100 cbcm. Flüssigkeit berechnet.		
	II.	III.	IV.
29. XI. 6 U. Ab. . . .	97 %	96³⁄₇ %	97½ %
30. XI. 10 U. M. . . .	89 »	89²⁄₇ »	91 »
» 6 U. Ab. . . .	85 »	85,7 »	88½ »
1. XII. 10 U. M. . . .	78 »	80,0 »	82½ »
» 6 U. Ab. . . .	76 »	77,8 »	80 »
2. XII. 10 U. M. . . .	72 »	75,7 »	74 »
» 6 U. Ab. . . .	72 »	70,7 »	71½ »
3. XII. 10 U. M. . . .	70 »	67,1 »	67 »
» 6 U. Ab. . . .	70 »	66,4 »	65½ »

Endlich war das constante Sedimentvolum im verdünnten defibrinirten Blute auch im Versuche IV (normales Blut) und V (nephritisches Blut) demselben im unverdünnten Blute procentig gleich. Dies hatte aber nur in schwach verdünnten Blutportionen (100 : 10 und 100 : 20) stattgefunden.

Die auseinandergesetzten Thatsachen, die die Gesetzmässigkeit und verschiedene Modificationen des Senkungsprocesses und dessen Endresultates unter bestimmten Bedingungen erwiesen, gestatteten nicht mehr anzunehmen, dass die Grösse des Sedimentes etwas Zufälliges ist und mit dem wirklichen Volum der gesammten Blutkörperchen Nichts zu thun hat. In dieser Beziehung waren besonders lehrreich die Resultate des XX. Versuches, in welchem das verdünnte Blut eigenthümliche Eigenschaft zeigte, das relative Sedimentvolum des ursprünglichen Blutes zu behalten. Hierbei bildete eine und dieselbe Blutkörperchenzahl in unverdünntem Blute 18 cbcm., und im Verhältniss 1 : 1 verdünnten 36 cbcm. grosses Sediment. Dieselben wohl nicht so ausgeprägten Erscheinungen traten auch im nichtdefibrinirten Blute nicht selten ein.

Die natürlichste und plausibelste Erklärung für derartige Thatsachen war die ungleiche Grösse einzelner Blutkörperchen, als Ursache verschiedener Sedimentvolumina. Ich wandte mich daher an die mikroskopische Untersuchung. Wenn auch diese Methode der Untersuchung wegen ihrer Subjectivität für unsere Zwecke nicht einwandsfrei genannt werden konnte, so wurden nichtsdestoweniger auf diesem Wege so auffallende und demonstrative Thatsachen ermittelt, dass sie wichtige Hinweise für die in Rede stehenden Fragen mit sich brachten. Dies geschah aber nicht früher, ehe ich mich überzeugt hatte, dass es dabei unentbehrlich ist, den Bodensatz an sich selbst mikroskopisch zu untersuchen.

Um den Blutkörperchenbodensatz isolirt zu untersuchen, wurde zuerst das darüber sich befindende Plasma, resp. Serum mittels trockener Pipette vollständig abgehoben: dies gelingt beim vorsichtigen Vorgehen sehr leicht, so dass die

Blutkörperschicht gar nicht gerührt wird und nur die Schicht weisser Blutkörperchen und eine kleine Plasmaschicht übrig bleibt. Darauf wurde eine andere trockene Pipette mit der mit dem Finger geschlossenen oberen Oeffnung tief in den Bodensatz hinein eingeführt, dieselbe ganz langsam in die Pipette eingezogen und in einer kleinen Porcellanschale gesammelt. Zur Untersuchung nahm ich einen nicht zu kleinen Tropfen des Bodensatzes, jeder Druck auf das Deckglas wurde sorgfältig vermieden. Ein zweiter Tropfen wurde in einem Tropfen entsprechenden Plasmas als Einbettungsflüssigkeit untersucht; der dritte in einem Tropfen 0,6 % Kochsalzlösung. Zur Untersuchung bediente ich mich des Zeiss'schen Apochromats 4,0 mm., Ap. 0,95, und des mikrometrischen Oculars 3 bei Tubuslänge 16 cm. Dabei entsprechen 3 Theilungen des Mikrometers = 10 μ ganz genau.

Wiewohl die untersuchten Blutarten meistens pathologischer Herkunft waren (Tuberkulose, Nephritis etc.), so zeigten sie doch bei mikroskopischer Untersuchung keine wesentlichen Anomalien: im Tropfen des frischen venösen Blutes oder (ohne Unterschied) des mit Natriumoxalat versetzten und defibrinirten lagen alle Körperchen in Geldrollen und zeigten die Diameter von 7,5—8,3 μ. Mitunter schien es mir, als ob im defibrinirten Blute etwas grössere Körperchen oder eine grössere Anzahl von Körperchen mit grösserem Durchmesser (8—8,5 μ), als im nichtdefibrinirten vorhanden wäre. Dies würde wohl mit den Befunden von Manassein[1]) stimmen, nach welchem die mit O gesättigten Blutzellen grösser, als die mit CO_2 gesättigten sind. Sonst erwiesen sich die Blutkörperchen im defibrinirten Blute nur etwas blässer, resp. heller, als die im nichtdefibrinirten.

Nun bietet ein Tropfen des Blutkörperchenbodensatzes bei mikroskopischer Untersuchung[2]) ein wesentlich anderes Bild,

---

[1]) Manassein, Ueber die Dimensionen der rothen Blutkörperchen, Berl. 1872.

[2]) Die unten beschriebenen Erscheinungen wurden ausser Herrn Prof. Dr. J. Stolnikow (jetzig. Leiter der Klinik) und klinischen Kollegen, auch Herrn Dr. W. Mayzel, Assistenten am hies. mikroskop. Laboraorium des Herrn Prof. H. Hoyer demonstrirt.

als das ursprüngliche Blut: 1. die Blutkörperchen im Bodensatze sind auffallend kleiner als dieselben im frischen Gesammtblute; 2. die Bodensatzkörperchen bilden keine Geldrollen, sondern eine Mosaik.

Die Abnahme des Volums einzelner Blutkörperchen im Sediment ist so charakteristisch, dass sie sogar ohne weitere Untersuchung auffällt. Bei Messungen zeigten die Bodensatzkörperchen Diameter von blos 5,8—5,0 μ, in manchen pathologischen Fällen noch weniger 3,3 μ — 4,1 μ, statt des normalen Durchmessers von 7,5—8,2 μ. Gewöhnlich sind alle Bodensatzkörperchen kleiner, so dass ihr Durchmesser nur in engen Grenzen schwankt, also in einem Falle zwischen 5,0—5,8 μ, in einem anderen zwischen 4,1 μ—5 μ, in einem dritten 3,33 μ — 4,1 μ u. s. w. Nur zweimal bin ich der Erscheinung begegnet, dass die Sedimentkörperchen nicht alle gleichmässig vermindert waren: neben ca. 30—40 % ganz kleine Elemente waren auch unzahlreiche Zellen von normaler oder fast normaler Grösse, und einige unbedeutend verminderte sichtbar.

Der zweite wichtige Unterschied, d. h. der Mangel an Geldrollen tritt nur dann hervor, wenn das Sediment constante Grösse erreicht hat, somit ist er zugleich ein Kriterion für den abgelaufenen Senkungsprocess. In einigen Fällen, wo zwei parallele Portionen defibrinirten Blutes zur Sedimentation angestellt wurden, habe ich in der einen Portion das Sediment früher, als in der anderen untersucht, d. h. als noch dasselbe kein constantes geworden war. In einem solchen Sediment waren nun Geldrollen wohl unzahlreiche und atypische, eher «Andeutung» an Geldrollen zu sehen, — in dem später untersuchten — dagegen keine. Die in diesem Falle in Geldrollen oder deren «Andeutungen» liegenden Blutzellen waren gewöhnlich grösser, als die die Mosaik bildenden Körperchen.

Zum Nachweis aller dieser Erscheinungen empfiehlt es sich, wie erwähnt, einen nicht zu kleinen Tropfen Bodensatzes zu untersuchen. Falls der Tropfen so klein ist, dass er den Raum unter dem Deckglase nicht ausfüllt, so unterliegen die Körperchen in der Mitte des Präparates, wo die Bodensatz-

schicht am dünnsten ist, infolge des Druckes u. s. w. hochgradigen Veränderungen: sie werden nämlich ganz blasse grosse Blutschatten. Andererseits stellt das Mikroskopiren von dickeren Schichten mitunter den Nachtheil dar, dass der Bodensatz nicht mehr als Mosaik aussieht, sondern eher als eine stellenweise homogene schwer bewegliche röthliche Masse, in welcher die Contouren einzelner Blutkörperchen nicht leicht oder gar nicht zu unterscheiden sind[1]). In dieser Masse sind öfter kleine weisse Körperchen enthaltende Lücken sichtbar. Jedenfalls sind auch dann neben einer solchen Masse zahlreiche Mikrocyten ganz deutlich nachzuweisen. Diese Mikrocyten tragen in diesem Falle wie sonst keine Zeichen des Wasserverlustes und der Schrumpfung, was bekanntlich in jedem frischen Blutpräparate nach einiger Zeit geschieht: übrigens spreche ich von dem Bilde, das sofort nach der Herstellung des Präparates zu sehen ist.

Ganz anders verhält sich die Sache, wenn man den Bodensatztropfen in einem Tropfen seines eigenen Plasmas oder Serums untersucht: es treten dabei Geldrollen mit Körperchen von normaler Grösse, resp. von normalem Durchmesser sofort auf. Dasselbe geschieht auch dann, wenn man das Sediment mit entsprechendem Plasma resp. Serum in durch die Sedimentation erwiesenem Verhältnisse zusammenmischt, d. h. ein künstliches Gesammtblut macht und einen Tropfen dieses Gemisches untersucht. In beiden Fällen wird im Präparate nicht selten ein Bild widergeben, das dem Bilde des frischen nativen Blutes vollkommen entspricht. Dies gilt besonders für das defibrinirte Blut (resp. dessen Bodensatz). Beim Untersuchen des Bodensatzes aus nicht defibrinirtem Blute kommen gewöhnlich neben Geldrollen von normalem Durchmesser noch sehr zahlreiche Mikrocyten vor, die keine Geldrollen bilden und deren Zahl nach 5—10 Minuten

---

[1]) Eben deswegen eignet sich für die Untersuchung sehr wenig die Blutkörperchenmasse, die im Hämatokrit mittelst des Centrifugirens erhalten wird. Uebrigens wirkt die Centrifugalkraft sehr bedeutend auf die Blutkörperchen ein, was unten näher besprochen wird.

allmälig abnimmt. Bei defibrinirtem Blute ist dies meistens nicht der Fall: kleine Bodensatzzellen verschwinden sofort nach dem Zusatz von Plasma und in solchem Präparate findet man Mikrocyten ebenso selten, wie sie selten im frischen Blute in allen meinen Fällen zu sehen waren. Dagegen bin ich bei nicht defibrinirtem Blute sogar zweimal der Erscheinung begegnet, dass die Bodensatzzellen nach dem Zusatz von Plasma in ersteren 5—10 Minuten gar nicht an Volum zunahmen, auch keine Geldrollen bildeten: alle lagen dabei frei und zeigte dasselbe Aussehen und dieselbe Grösse, wie im Bodensatztropfen. Erst nach 5—10 Minuten konnte man einzelne grössere Körperchen wahrnehmen, die sich allmälig zu Geldrollen vereinigten.

Alle in Rede stehenden Befunde gelten im Allgemeinen in demselben Grade sowohl für das verdünnte Blut, als für das unverdünnte. In Bezug auf das mit 0,6 % Kochsalzlösung verdünnte Blut muss aber die Bedeutung der Geldrollenbildung, als Kriterions für den Senkungsprocess beschränkt werden und nun dank dem Umstande, dass die physiologische Kochsalzlösung an sich selbst die Geldrollenbildung sehr wesentlich beeinflusst. Untersucht man nämlich einen Tropfen des frisch mit 0,6 % Na Cl-Lösung im Verhältniss 1 : 1 verdünnten Blutes, so fällt es sofort auf, dass die Körperchen nicht so dicht nebeneinander in Geldrollen liegen. Nach ein Paar Minuten sind ziemlich zahlreiche isolirte Körperchen sichtbar, deren Aussehen und Durchmesser während der Beobachtung eine Aenderung erleidet: die Diameter nehmen etwa bis auf 6,6 μ ab, und die Körperchen erscheinen scharf contourirt. In noch höherem Grade geschieht dasselbe, wenn man einen kleinen Tropfen frischen Blutes in einem grösseren Tropfen 0,6 % Na Cl-Losung untersucht: am Rande des Bluttropfens liegen dann alle scharf contourirte Blutzellen isolirt. Versetzt man einen Tropfen rothen Bodensatzes mit physiologischer Kochsalzlösung, so fallen wieder diese höchst charakteristischen «0,6 % Kochsalzlösung» Körperchen auf: nur treten sie viel rascher und in gröserer

Anzahl hervor, als beim Untersuchen des nativen Blutes. Ueberhaupt war es höchst bemerkenswerth, dass die physiologische Kochsalzlösung das Streben zeigte, den Körperchen — möchte es sich um defibrinirtes oder nichtdefibrinirtes Blut oder Bodensatz allein handeln — immer dasselbe Aussehen und dasselbe Diameter (etwa 6 μ) zu geben. Dementsprechend nahm der Durchmesser der Bodensatzkörperchen immer zu, das der Blutkörperchen dagegen ab.

In Uebereinstimmung mit solchem Verhalten stand die Thatsache, dass die Bodensatzkörperchen des defibrinirten und verdünnten (1:1) Blutes den «0,6 % NaCl-Lösung»-Körperchen fast immer stark ähnelten. Unter dem Einflusse ihres Serumtropfens (das Serum war wohl in diesem Falle wasserreicher als das normale) nahmen sie sofort an Grösse zu, zwar bildeten sie Geldrollen sehr ungern.

Die Abnahme der Grösse der rothen Blutkörperchen unter dem Einflusse des Senkungsprocesses wurde auch für das Hunde- und Kaninchenblut festgestellt. Sonstige Blutarten waren mir nicht zugänglich. Beim nichtdefibrinirten und defibrinirten Hundeblut fiel diese Thatsache noch demonstrativer aus, als ich je beim Menschenblute gesehen hatte. Das Blut stammte von einem Hunde, der durch Chloroformisation getödtet wurde. Im Sedimente zeigten alle in Mosaik liegenden Körperchen den Durchmesser von etwa 5 μ statt des normalen 7,2—7,8 μ. Beim defibrinirten Kaninchenblut, das nur 30 % Serum ausgeschieden hatte, lagen die Dinge nicht so ausgeprägt vor: jedenfalls waren auch hierbei sehr zahlreiche Mikrocyten von 4 μ Diameter sichtbar. Beim Vermischen des Bodensatzes mit Plasma, resp. Serum habe ich aber die Zunahme der Blutkörpergrösse, auch eine Geldrollenbildung weder beim Hunde- noch beim Kaninchenblut eintreten gesehen; dabei konnte nur die Mikrocytose noch evidenter constatirt werden. In Bezug auf die Geldrollenbildung unterschied sich aber das von mir untersuchte frische Hunde- und Kaninchenblut sehr wesentlich von dem Menschenblute: denn es lagen in ersteren nicht alle Körperchen in Geldrollen, während bei Untersuchung eines Tropfens frischen Menschen-

blutes unter gleichen Bedingungen überhaupt keine (wenigstens sehr selten) isolirt liegende Erythrocyten zum Vorschein kamen. Somit gilt die oben auseinandergesetzte Bedeutung der Geldrollenbildung bisher nur für das Menschenblut.

Die auseinandergesetzten Thatsachen glaube ich nur mit der Annahme erklären zu können, dass die rothen Blutkörperchen im nativen Blute Plasma in ihrem Innern enthalten. Demnach ist die Verminderung des Volums einzelner Bodensatzkörperchen eine Folge der Plasmaabgabe; die Zunahme des Volums bis zur Norm beim Vermischen des Bodensatzes mit zugehörigem Plasma ist dagegen Wiederherstellen des natürlichen Verhaltens.

Durch diesen Schluss kehre ich zu den ältesten Auschauungen über die Beziehungen zwischen dem Plasma und den Blutkörperchen einigermasen zurück. Prevost und Dumas[1]), die als erstere bahnbrechende Untersuchungen über die physich-chemische Constitution des Wirbelthierblutes ausführten, sprachen den Satz aus, dass «die Blutzelle vom umgebenden Plasma durchtränkt, mechanisch imbibirt zu betrachten ist». Dieser Hypothese trat C. A. Schmidt[2]) ein Vierteljahrhundert später in seiner berühmten «Charakteristik der epidemischen Cholera» entgegen und suchte deren Unzulässigkeit, zwar ziemlich aprioristisch, zu beweisen. Im Gegensatz zu Prevost und Dumas stellte C. A. Schmidt die Anschauung auf, dass die rothen Zellen und das Plasma zwei besondere, quantitativ in jeder einzelnen Blutart genau bestimmte Blutcomponente sind, zwischen welchen Diffusionserscheinungen wohl existiren können, doch kein inniger directer Zusammenhang besteht. In diesem Sinne sind auch alle späteren Untersuchungen über den Blutchemismus ausgeführt, wobei man sich bemühte, möglichst «reine» Blutkörperchen zu bekommen.

---

[1]) Prevost und Dumas, cit. nach C. A. Schmidt.

[2]) C. A. Schmidt, Charakteristik der epidemischen Cholera gegenüber verwandten Transsudationsanomalien. Leipzig und Mitau, 1850, S. 5, 7.

Nichtsdestoweniger wiesen auch unsere zahlreichen Beobachtungen über die Sedimentation an sich mit Bestimmtheit darauf hin, dass der Senkungsprocess keine rein mechanische Erscheinung sein kann, mit anderen Worten, dass derselbe keine einfache Senkung, sondern zugleich «Ausscheidung» von Plasma ist. In der That, es lässt sich die Erscheinung, dass das defibrinirte Blut viel langsamer als das nichtdefibrinirte sedimentirt, in keiner Weise der rein mechanischen Theorie unterziehen. Analoge Thatsachen führt auch M. Bleibtreu[1]) an. So setzten sich in seinen Versuchen die Blutkörperchen im Pferdeblut meist in 24 Stunden vollständig ab, während man beim Schweineblut mehrere Tage darauf warten musste. Noch viel langsamer verlief die Sedimentation im Rinderblut[2]). Trotzdem zeigte sich das specifische Gewicht der Schweineblutkörperchen nur unbedeutend niedriger, als das der Pferdeblutkörperchen: die Differenz des Senkungsvorganges wurde desto dunkler, als dabei die specifischen Gewichte der Sera sich fast ganz gleich erwiesen. Neben diesen Beobachtungen kann ich die meinige aus dem Versuche stellen, wo die Sedimentation im, eine Stunde später verdünnten defibrinirten Blute viel rascher vor sich ging, als in der Portion, die bald nach der Defibrinirung mit 0,6 % physiologischer Kochsalzlösung verdünnt und also eine Stunde früher sich absetzen gelassen wurde.

Alle derartige Erscheinungen werden durch den Umstand erklärt, dass augenscheinlich die Eigenschaft der Blutkörperchen beim Absterben des Blutes das Plasma abzugeben nicht gleichen Grades in verschiedenen Blutarten ist, und speciell, dass sie durch das Defibriniren wesentlich beeinflusst wird. In Folge des Defibrinirens behalten die Körperchen das Serum besonders zähe und dementsprechend zeigen nachher eine viel grössere Wiederaufnahmefähigkeit des letzteren, als die Körperchen des nichtdefibrinirten Blutes.

---

[1]) M. Bleibtreu, Widerlegung der Einwände etc. Pflüger's Archiv, 1893, Bd. 55, S. 402.

[2]) Analoge Erscheinungen hat noch vor Jahren F. Hoppe-Seyler beobachtet. Beiträge zur Kenntniss des Blutes des Menschen und der Wirbelthiere. Medicinisch-chemische Untersuchungen, H. 2, 1867, S. 172—173.

Dass das Plasma ein unentbehrlicher Bestandtheil der Blutkörperchen im nativen Blute sein muss, dafür scheint noch der Farbstoffaustritt zu sprechen, der, wie erwähnt, in manchen Blutarten zur Zeit zu Stande kommt, wo die Sedimentation schon ihrem Ende sich nähert. Zugleich weist diese Erscheinung darauf hin, dass nach der stattgehabten Ausscheidung des Plasmas aus den Blutkörperchen auch anderweitige Abgaben seitens derselben, gar nicht infolge des eintretenden Zerfallprocesses, manchmal vorkommen können. Dies kann besonders im verdünnten Blute stattfinden; vielleicht deswegen auch ist eine constante Bodensatzschicht in solchem Blute schwer zu bekommen. In einigen Fällen habe ich das während des ersten Tages abgeschiedene Serum im verdünnten Blute und dann das nach 2—3 Tage abgeschiedene auf den Stickstoffgehalt untersucht: nun erwies sich das später abgeschiedene Serum um Geringes an N reicher als das früher gesammelte.

	In 5 cbcm	
	früheren Serums.	späteren Serums.
Vers. XXI: Verdünnung 100:50 . .	0,04312 N.	0,04396 N.
» » 100:100 .	0,02954 »	0,03010 »
Vers. XV: Verdünnung 100:40 . .	0,02397 »	0,02506 »

Derartige kleine Unterschiede sprechen gegen die schon von C. A. Schmidt bewiesene Thatsache gar nicht, dass die während der Sedimentation, resp. der Blutgerinnung abgeschiedenen einzelnen Serumportionen dieselbe Zusammensetzung zeigen. Somit sollen auch die Blutkörperchen das Plasma in toto enthalten.

Dabei können aber zwei Fragen nicht beantwortet werden: erstens, ob alle Blutkörperchen im totalen Blute Plasma in ihrem Innern bergen; zweitens, wieviel Plasma überhaupt in den Blutkörperchen selbst sich befindet. Im circulierenden Blute muss freies Plasma sein; andererseits ist es aber sicher, dass im circulirenden Blute viel weniger freies Plasma vorhanden ist, als bei der Sedimentation abgeschieden wird. Am wahrscheinlichsten befindet sich im circulirenden Blute nur dasjenige freie Plasma, das zur

Zeit als Blutkörperchenstrom nach den Geweben hinaus, oder als Gewebestrom in die Blutkörperchen hereintritt. Andererseits giebt es zweifellos pathologische Zustände, wie z. B. idiopathische Anämien und Hydrämien, wo die Menge des Plasmas überhaupt und des freien Plasmas vermehrt ist, und andererseits Zustände, wie Oligoplasmie mit Abnahme der Quantität des freien Plasmas.

Zugleich ist es aus einigen Beobachtungen zu schliessen, dass umgekehrt auch die rothen Blutkörperchen des circulirenden Blutes nicht in allen Fällen gleiche Menge Plasmas in sich beherbergen. Ich habe schon oben erwähnt, dass in manchen pathologischen Blutarten mit normaler oder fast normaler Blutkörperchenzahl und verminderter Färbekraft, die Senkungsschicht viel kleiner ist, als in der Norm, als statt 52—56 % nur 35—40 % beträgt. In Bezug auf derartige Fälle habe ich den Satz ausgesprochen, dass «die Abnahme des Sedimentvolums der rothen Masse auf die Abnahme des durchschnittlichen Volums jedes einzelnen Körperchens zurückgeführt werden muss». Nun als ich mich im Laufe der in Rede stehenden Beobachtungen an die Messung der Diameter der Körperchen in einigen diesbezüglichen Blutarten wandte, so fand ich — anfänglich zu meinem Erstaunen — in dieser Beziehung keine deutlichen Unterschiede von der Norm: im Tropfen des undefibrinirten oder defibrinirten Blutes zeigten die Körperchen den Durchmesser von 7,7—8,2 μ, also dasselbe wie in gesundem Zustande. Erst die Untersuchung des Sedimentes allein bestätigte die Richtigkeit meiner Voraussetzung: denn die Körperchen waren hier noch kleiner, als im Bodensatz des normalen Blutes, und überhaupt waren sie hierbei die kleinsten, etwa von 3,3 μ Durchmesser, die ich je gesehen hatte.

Hier ging also die Grösse des Sedimentes mit der Grösse einzelner Blutkörperchen in Parallele einher. Ein solches Verhalten konnte übrigens auch sonst nachgewiesen werden, natürlich ganz objectiv nur für diejenigen Fälle, wo bei gleicher Blutkörperchenzahl die Sedimentgrössen von einander wesentlich differirten. Also erwiesen sich die Bodensatzkörperchen

«oligoplasmischen» Blutes auffallend grösser, als die des normalen; die «0,6 % Na Cl-Lösung»-Körperchen des Bodensatzes im verdünnten Blute waren wieder grösser, als die des unverdünnten nichtdefibrinirten Blutes.

Uebrigens stellt es sich aus allem Gesagten klar heraus, dass das constante Sediment an sich selbst einen wirklichen Werth besitzt. Es stellt aber mit sich kein «Volum der gesammten Blutkörperchen des circulierenden Blutes», sondern das echte «Volum der eigentlichen Blutkörperchensubstanz». Es unterliegt auch keinem Zweifel mehr, dass im constanten Sediment diese «gesammte Blutkörperchensubstanz» rein ist: denn, wie erwähnt, sind in nicht constant gewordenen Sedimenten, wo noch Zwischenflüssigkeit vorhanden ist, Geldrollen zu sehen, die das beste Reagens für die Anwesenheit des Plasmas im Sediment mit sich darstellen. Möchte aber die Sedimentation ein rein mechanischer Vorgang sein, so würden auch die Körperchen einen ganz homogenen und reinen Bodensatz bilden können und eben infolge ihrer Biegsamkeit, dank welcher sie die Filterporen beim Filtriren des Blutes ganz leicht passiren. Andererseits würde dabei die Erklärung für die Erscheinung, dass eine zweimal grössere constante Senkungsschicht (wie im Versuche XX) aus gleicher Blutkörperchenzahl nur infolge einer grösseren zurückgebliebenen Menge der Zwischenflüssigkeit entstanden sei, nur unter Zugrundenahme irgend einer mystischen Kraft möglich sein.

Ich wende mich jetzt zu der Besprechung der M. u. L. Bleibtreu'schen Methode. Diese Methode ist von den Verfassern ersonnen: erstens unter Voraussetzung im Sinne der herrschenden Theorie, dass die ganze Plasmamenge im circulirenden Blute ganz frei ist und zweitens, dass sich die zugesetzte Kochsalzlösung nur mit dem vorhandenen Serum vermische, wobei die Blutkörperchen unverändert bleiben. Gegen letzteren Punkt hat Hamburger[1]) neulich principielle

[1]) H. J. Hamburger. Die physiologische Kochsalzlösung und die Volumbestimmung der körperlichen Elemente im Blute. Centralbl. f. Physiologie, 1893, H. 6.

Einwände erhoben, indem er behauptet, dass bei dem Versetzen des Blutes mit 0,6 % Kochsalzlösung in den von M. u. L. Bleibtreu geübten Verhältnissen eine Flüssigkeitsaufnahme seitens der Blutkörperchen stattfindet, wonach deren Gesammtvolum zunehme. Die Richtigkeit seiner Meinung wollte Hamburger in der Weise beweisen, dass er einige Portionen zu je 40 cbcm. Blut, die eine mit 40 cbcm. Serums, die andere mit 40 cbcm. einer 0,6 % Na Cl-Lösung, die dritte mit 40 cbcm. einer 1 % Na Cl-Lösung und die vierte mit 40 cbcm. einer Mischung von 30 cbcm. Serums und 10 cbcm. Wassers versetzte und nachher die Mischungen in calibrirten Röhrchen centrifugirte, bis die Blutkörperchenmasse keine Volumsabnahme mehr zeigte. Nun war das Sediment in der Portion mit physiologischer Kochsalzlösung grösser (15 cbcm.), als in der Norm (13,5 cbcm.).

Andererseits hat Lackschewitz[1]) aus dem Laboratorium von Al. Schmidt Versuche veröffentlicht, gemäss welchen bei Einführung einer 0,6 % Kochsalzlösung ins Blut die rothen Blutkörperchen sowohl intra wie extra corpus die Fähigkeit zeigen, «grosse Mengen Wasser aufzunehmen, es dem Serum zu entziehen versuchen». Dasselbe hat Hamburger[2]) noch früher gesehen: «bei Injection einer sehr mässigen Quantität einer 0,6 procentigen Kochsalzlösung in die Blutbahn soll der Wassergehalt der rothen Blutkörperchen um 52 % bis 115 % wachsen; der Wassergehalt des Serums soll aber fast unverändert bleiben.»

In seiner neuestens publicirten «Widerlegung» bestreitet M. Bleibtreu[3]) sowohl die Schlussfolgerungen Lacksche-

---

[1]) Th. Lackschewitz. Ueber die Wasseraufnahmefähigkeit der rothen Blutkörperchen nebst einigen Analysen pathologischen Blutes. Diss. Dorpat, 1892, S. 24 und fol.

[2]) H. J. Hamburger. Ueber die Regelung der Blutbestandtheile bei experimenteller hydrämischer Plethora, Hydrämie und Anhydrämie, Zeitschr. f. Biologie, Bd. XXVII, 1890, S. 259—308.

[3]) M. Bleibtreu. Widerlegung der Einwände des Herrn H. J. Hamburger gegen das Princip der von L. Bleibtreu und mir begründeten Methode der Blutkörperchenvolumbestimmung. Pflüger's Archiv, Bd. 55, 1893, S. 402. Derselbe: Ueber die Wasseraufnahmefähigkeit der rothen Blutkörperchen. Pflüger's Archiv, Bd. 54, S. 1.

witz, als besonders die Einwände Hamburger's» und versichert dabei, dass beim Versetzen des Blutes mit 0,6 % Na Cl-Lösung in dem von ihm gewöhnlich gebrauchten Verhältnisse (1 : 1, 2 : 1) die rothen Blutkörperchen gegen dieselbe vollkommen indifferent sind, so dass weder eine Veränderung des Volums, noch das Stickstoffgehaltes in denselben in einer nachweisbaren Menge nicht stattfindet. Es nimmt jedoch der Verfasser an, dass dies bei bedeutend stärkerer Verdünnung vorkommen kann: deswegen hält er für zweckmässig, der Vorsicht halber sich bei der Ausführung der Bestimmung nach seiner Methode mit der Verdünnung von Blut und 0,6 % Kochsalzlösung zu gleichen Theilen zu begnügen.

Auf Grund meiner eigenen mikroskopischen Beobachtungen steht es für mich ausser jedem Zweifel, dass die physiologische Kochsalzlösung auf die rothen Blutkörperchen einwirkt, wodurch die Bildung jener charakteristischen «0,6 % Na Cl-Lösung»-Körperchen zu Stande kommt. Diese Einwirkung habe ich sowohl beim Versetzen des Blutes mit physiologischer Kochsalzlösung zu gleichen Theilen, als auch beim Untersuchen eines kleinen Tropfens des Blutkörperchenbodensatzes oder des Blutes in einem grösseren Tropfen der 0,6 % Na Cl-Lösung eintreten gesehen, d. h. sowohl bei Anwesenheit kleinerer, wie grösserer Mengen dieser Flüssigkeit. Der einzige Unterschied zwischen beiden Einwirkungen bestand nur — was an sich selbstverständlich war — in der Schnelligkeit; bei Einwirkung grösserer Mengen erfolgte die Bildung «0,6 % Na Cl-Lösung»-Körperchen und das Verschwinden der Geldrollen viel rascher, als bei Anwesenheit kleinerer Mengen. Nur kann ich nicht den ganzen dabei stattfindenden Vorgang eine «Quellung» der Blutkörperchen nennen: denn beim Gesammtblute quellten dabei die Körperchen gar nicht auf, sondern nahmen sie an ihrem Volum eher ab. Diese Erscheinung geschieht augenscheinlich infolge der Diffusionsvorgänge, die zwischen den Blutkörperchen und der sie umgebenden 0,6 % Na Cl-Lösung sich einstellen. Die Existenz solcher Diffusionsvorgänge erhellt weiter aus dem Umstande, dass auch im verdünnten Blute die zeitlich verschiedenen Serumportionen fast denselben Eiweissgehalt

zeigen. Verhielten sich die Blutkörperchen vollkommen indifferent gegen die zugesetzte Kochsalzlösung, so würde dies gar nicht stattfinden können und würden die ersten Serumportionen viel wasserreicher sein, als die späteren.

Die Diffusion muss dabei gemäss den von C. A. Schmidt aufgestellten Gesetzen in der Weise verlaufen, dass gegen ein aus den Blutkörperchen austretendes Eiweissäquivalent ein Wasseräquivalent in dieselben hereintritt: somit werden endlich die Blutkörperchen des mit 0,6% NaCl-Lösung versetzten Blutes wasserreicher, als in der Norm.

So steht es mit dem Princip der M. u. L. Bleibtreu'schen Methode. Was deren Ergebnisse anbelangt, so ist der Umstand wichtig (den eben die Verfasser als Prüfstein für die Richtigkeit ihrer Methode ansehen), dass sie sich selbst controllirt. D. h. sobald mehr als eine Mischung angewandt wird, z. B. drei Blutportionen, die eine unverdünnte und die zwei verdünnten im Verhältnisse 2:1 und 1:1, so gehen bei der Berechnung der Plasmaquantität aus N-Werthen im abgehobenen Serum identische Ziffer heraus. So fanden die Verfasser bei Untersuchung eines defibrinirten Menschenblutes (aus der Leiche) die Werthe 75,11%, 74,8% und 74,89%; in den Versuchen mit Thierblut in einem Fall: 66,0%, 66,96% und 67,93% (V. 11, S. 180), in einem anderen 60,66%, 61,98% und 59,82% u. s. w.

Ich habe in ziemlich zahlreichen Sedimentationsversuchen die abgeschiedenen Sera mit der Kjeldahl-Argutinsky'schen Methode (Methylorange als Indicator) auf den Stickstoffgehalt untersucht und dann mit den erhaltenen Werthen nach dem Beispiel von L. u. M. Bleibtreu die Berechnung ausgeführt. Die Ergebnisse waren nun verschieden. Ueberhaupt habe ich in keinem Falle eine so völlige Uebereinstimmung der Berechnungsresultate erhalten, wie dies in der Arbeit der Verfasser der Fall ist; es standen wohl dabei die Werthe ziemlich nahe zu einander. In einer anderen Reihe der Versuche differirten sie dagegen sehr stark, trotzdem die Versuchsanordnung ganz dieselbe blieb und jeder Untersuchungsfehler dabei ausgeschlossen war. Jedenfalls waren

die erhaltenen Werthe sowohl in der ersten Reihe, wie in den Versuchen nur mit zwei Mischungen, kleiner, als die beobachteten Sedimentvolumina.

Analyse I (Versuch I).

1. In 5 cbcm. Plasma aus dem nichtdefibrinirten und unverdünnten Blute . . . . , ... 65,8 mgr. N.
2. In 5 cbcm. Plasma aus der Mischung 25 cbcm Blut + 5 cbcm. 0,6 % NaCl-Lösung (100 : 20) . . . . . 50,12 » »
3. In 5 cbcm. Pl. bei Mischung 100 : 100 . . . . 26,46 » »

Daraus ergibt sich nach der Formel:

1 : 2 = 63,9 % Plasma im untersuchten Blute.
2 : 3 = 69,4 » » » » »
1 : 3 = 67,2 » » » » »

Im Mittel = 66,8 % Serum oder 33,2 % Blutkörperchen.
Das Sediment im unverd. Blute = 56 %.

Analyse II (Versuch VII).

Defibrinirtes Blut.

1. In 5 cbcm. unverdünnten Serums . . . . 62,72 mgr. N.
2. In 5 cbcm. verdünnten (100 : 40) . . . . 40,88 » »

Daraus 1 : 2 = 74,8 % Serum oder 25,2 % Blutkörperchen.
Sedimentvolum im undef. Blute . 47 » »

Analyse III (Versuch IX).

Nichtdefibrinirtes Blut.

1. In 5 cbcm. unverdünnten Plasmas . . . . 69,16 mgr. N.
2. In 5 cbcm. verdünnten (100 : 40) . . . . 40,88 » »

Daraus 1 : 2 = 57,8 % Serum oder 42,2 % Blutkörperchen.
Sedimentvolum im nichtdef. Blut . 47,2 » »

Analyse IV (Versuch VIII).

Defibrinirtes Blut.

1. In 5 cbcm. unverdünnten Serums . . . . 62,72 mgr. N.
2. In 5 » verdünnten 100 : 40 . . . . 38,36 » »
3. In 5 » » 100 : 100 . . . . 24,5 » »

Daraus 1 : 2 = 62,9 %.
1 : 3 = 76.0 »
2 : 3 = 66,0 »

Im Mittel = 68,3 % Serums oder 31,7 % Blutkörperchen.
Sedimentvolum im undef. Blute . 54 » »

Analyse V (Versuch X).

Defibrinirtes Blut.

1. In 5 cbcm. unverdünnten Serums . . . . 62,32 mgr. N.
2. In 5 » verdünnten (100: 40) . . . . 39,34 » »
3. In 6 » » (100: 100) . . . . 25,76 » »

Daraus 1 : 3 = 70.4 %.
1 : 2 = 69,4 »
2 : 3 — 73,7 »

Im Mittel = 70,8 % Serum oder 29,2 % Blutkörperchen.
Sedimentvolum im undef. Blute 47,9 » »

Analyse VI (Versuch XIX).

Defibrinirtes Blut.

1. In 5 cbcm. unverdünnten Serums . . . . 59,388 mgr. N.
2. In 5 » verdünnten 100: 40 . . . . 36,288 » »
3. In 5 » » 100: 100 . . . . 21,700 » »

Daraus 1 : 2 = 62 %.
1 : 3 = 57,5 %.
2 : 3 = 42,3 »

Analyse VII (Versuch XXI).

1. In 5 cbcm. unverdünnten Serums . . . . 71,54 mgr. N.
2. In 5 » verdünnten 100: 50. . . . . 43,12 » »
3. In 5 » » 100: 100. . . . . 29,54 » »

Daraus 1 : 3 = 70,3 %.
1 : 2 = 75,8 »
2 : 3 = 58,7 »

Die Ursache derjenigen starken Unterschiede, welche bei Analysen IV, VI, VII vorgekommen sind, bleibt mir vollkommen dunkel. Es könnten daran verschiedene Umstände betheiligt werden. So habe ich vor allen Dingen an ganz frischem Menschenblut experimentirt; das Versetzen des Blutes mit 0,6 % Na Cl-Lösung erfolgte gleich nach der Defibrinirung. Möglicherweise waren dabei die im frischen Blute stattfindenden Oxydationen nicht ohne Einfluss auf den normalen Ablauf der Diffusionsvorgänge und daher auch auf die Resultate der Analyse. Andererseits habe ich das Serum zur Analyse gewöhnlich zur Zeit abgehoben, als der Senkungsprocess sich seinem Ende näherte. Bei der Analyse VII waren aber die Sera schon am ersten Tage abgehoben, trotzdem differirten die Berechnungsresultate auch wesentlich von einander. Die Frage bleibt also offen.

Somit können nur die eigenen Versuche von M. und L. Bleibtreu in Rede kommen. Ganz sicher ist es, dass der nach dieser Methode erhaltene Werth in Bezug auf die Plasmamenge falsch ist. Er bezeichnet also nicht nur die Plasmaquantität, sondern auch noch Etwas, und namentlich glaube ich, die Menge derjenigen Stoffe, die beim Versetzen des Blutes mit physiologischer Kochsalzlösung aus den Blutkörperchen in dieselbe, gleich einigen Plasmabestandtheilen, diffundiren. Denn gewiss unterliegen dabei dem Diffusionsprocesse nicht alle Bestandtheile der Blutkörperchen, sondern nur einige; das Hämoglobin ist daraus bekanntlich vollkommen ausgeschlossen. Die Blutkörperchensubstanz enthält aber ausser Hämoglobin noch andere N haltige Substanzen, wie Eiweissstoffe, Nucleïne und dergl., von denen manche zweifellos unter dem Einflusse der physiologischen Kochsalzlösung, resp. auch anderer Kochsalzlösungen in die umgebende Zwischenflüssigkeit heraustreten. Wie ich aber neuestens in Bestätigung der ersten eigenen Befunde und der alten Befunde von C. A. Schmidt mich überzeuge, kann die Menge dieser N-haltigen Blutkörperchenbestandtheile schon in der einen Blutart, d. h. im Menschenblute sehr stark schwanken. Dementsprechend war es mir ganz klar, dass auch bei meinen Bestimmungen die nach der Methode von M. und L. Bleibtreu erhaltenen Werthe in einem regellosen Verhältnisse zu den Sedimentvolumwerthen standen.

Die hämatokritischen Bestimmungen wurden mit dem Gärtner'schen Apparate und der Gärtner'schen Kreisselcentrifuge ausgeführt. Zur Untersuchung wurde immer dasjenige Blut aus den Cylindern genommen, sofort nach deren Einfüllung, mit dem Sedimentvolum dessen die hämatokritische Date verglichen werden sollte. Danach wurde der Hämatokrit solange centrifugirt, bis die Blutkörperchenmasse keine Volumabnahme mehr zeigte — also durchschnittlich ca. eine Stunde lang. Bei manchen Blutarten konnte noch nach $1\,^1/_2$-$1\,^3/_4$ Stunden langem Centrifugiren keine constante Senkungsschicht ermittelt werden.

Es hat sich nun Folgendes herausgestellt:

1. Im nichtdefibrinirten normalen und pathologischen Blute stimmen die mit dem Hämatokrit

erhaltenen Werthe mit den Sedimentvolumina überhaupt nicht, zwar sind die Unterschiede in manchen Fällen recht unbedeutend. In zwei normalen Blutarten wurde mit dem Hämatokrit um 5—6 % mehr Blutkörperchen bestimmt, in pathologischen Fällen dagegen meistens um 7—8 % weniger, als mittelst der einfachen Sedimentation.

Tabelle I.

Nichtdefibrinirtes Blut.

	Sedimentvolum.	Hämatokrit.
1. Normales Blut (Vers. II)	52 %	57 %
2. » » (Vers. III)	53,8 »	59 »
3. Nephritisch. Blut (Vers. VII)	47,0 »	44 »
4. » » (Vers. IX)	47,2 »	52 »
5. Einfache Anämie (Vers. XI)	53 »	47 »
6. Nephritisch. Blut (Vers. XXII)	33 »	35 »
7. Blut beim Herzfehler (Vers. VIII) . .	54 »	53 »
8. Oligoplasm. Blut (Vers. XIX)	60 »	52 »
9. » » (Vers. XVIII)	77,5 »	57 »
10. Blut von einem Neurasth. (Vers. XXIII)	46,1 »	37 »

Besonders sind die Unterschiede in den Versuchen 8, 9 und 10 auffallend, während beide Bestimmungen in den Versuchen 6 und 7 fast absolut übereinstimmen.

2. Im defibrinirten Blute ergibt der Hämatokrit stets kleinere Werthe, als die einfache Sedimentation. Von vier Versuchen, wo nichtdefibrinirtes und defibrinirtes Blut parallel centrifugirt wurden, stimmten in zwei Fällen die daraus erhaltenen Werthe vollkommen überein, in zwei anderen dagegen nicht.

Tabelle II.

Defibrinirtes Blut.

	Constantes Sedimentvolum im defibr. Blute.	Hämatokr. Werthe	
		in entspr. defibr. Blute.	in nicht-defibr. Blute.
1. Normales Blut (Vers. II) . . .	63,2 %	57 %	57 %
2. » » (Vers. III) . . .	61,2 »	59 »	59 »
3. Tuberculos. pulm. (Vers. IV) . .	56,1 »	48 »	—
4. Chronische Nephr. (Vers. V) . .	55 »	48 »	—
5. Hyster. Anämie (Vers. XI) . . .	58 »	54 »	47 »
6. Herzfehler (Vers. VIII)	62 »	48 »	53 »
7. Oligoplasmie (Vers. XX)	72 »	57 »	—

In den Versuchen 1, 3, 4, 6 und 7 wurde das ganz frische defibrinirte Blut centrifugirt, in den Versuchen 2 und 5 wurde dagegen das Blut, nachdem es sich vollkommen abgesetzt hatte, wieder vermischt und nur dann centrifugirt.

3. Im mit 0,6 % Na Cl-Lösung verdünnten Blute, sowohl nichtdefibrinirten als auch defibrinirtem, sind die hämatokritischen Werthe nicht nur kleiner als die Sedimentvolumina, sondern auch als die entsprechenden hämatokritischen Daten des unverdünnten Blutes und gewöhnlich gehen sie mit der Blutkörperchenzahl in einer Volumeinheit des verd. Blutes parallel. Somit ist der hämatokritische Werth im zu gleichen Theilen mit 0,6 % Na Cl-Lösung verdünnten Blute zweimal kleiner, als im diesbezüglichen unverdünnten, u. dergl. Dabei bildet sich beim Centrifugiren des frisch verdünnten Blutes der Bodensatz im Hämatokrit überhaupt bedeutend rascher, als im unverdünnten Blute, also ist das Verhalten in dieser Beziehung ganz umgekehrt, als bei einfacher Sedimentation. Dagegen rührt man das verdünnte Blut um zur Zeit, als es sich schon abgesetzt hat, und centrifugirt man dasselbe, so sedimentiren die Blutkörperchen schon viel langsamer als im frisch verdünnten Blute, und es bildet sich gewöhnlich ein grösserer Bodensatz als im letzteren.

Tabelle III.

Verdünntes Blut.

		Hämatokritische Werthe.	Sedimentvolum.
1.	Unverdünntes defibrin. Blut (Vers. II)	48 %	55 %
	Dasselbe Blut verdünnt 100 : 20 .	40 »	50,8 »
	» » » 100 : 100 .	24 » (v. 28 %	44 » (?)
2.	Unverdünntes defibrin. Blut (Vers. I) .	—	66 »
	Dasselbe Blut verdünnt 100 : 100 .	39 »	64 » (?)
3.	Unverdünntes defibrin. Blut (Vers. II)	57 »	63,2 »
	Dasselbe Blut verdünnt 100 : 100 .	29 »	61,6 » (?)
4.	Nichtdefibr. unverd. Blut (Vers. XVI) .	—	57,6 »
	Dasselbe Blut verdünnt 100 : 40 . .	48 »	52 »
5.	Nichtdefibr. unverd. Blut (Vers. VI) .	—	46,4 »
	Dasselbe Blut verdünnt 100 : 40 . .	34 »	35,2 »
6.	Unverdünntes defibr. Blut (Vers. XI)	54 »	58 »
	Dasselbe Blut verdünnt 100 : 40 . .	37 »	52,8 »

In den Versuchen 1, 2, 3 wurde das frisch verdünnte, in den 4, 5 und 6 dagegen das abgesetzte und wieder vermischte Blut centrifugirt. Im Versuche 1 ergab der Hämatokrit im frisch verdünnten Blute 24 % Bodensatz, in demselben nach der stattgehabten Sedimentation 28 %. Aus allen diesen Versuchen geht es klar heraus, dass man die hämatokritischen Werthe mit den Ergebnissen der einfachen Sedimentation nicht — im Gegensatz zu der herrschenden Ansicht — identificiren darf. Die Werthe, die der Hämatokrit ergibt, unterscheiden sich sogar in unverdünntem Blute von den Sedimentvolumina häufig ebenso stark, wie die letzteren von den Ergebnissen der M. und L. Bleibtreu'schen Methode.

Man hat bei den Volumbestimmungen mit dem Hämatokrit die Centrifugalkraft mit dem Zwecke angewendet, um die «Senkung» der Blutkörperchen zu beschleunigen. Wäre die mechanische Theorie der Sedimentation richtig, so würde man dieselben Ergebnisse von der einfachen Sedimentation wie von dem Absetzen mittelst des Hämatokriten einigermaassen erwarten können und würden derartige Erscheinungen, dass die einfache Sedimentation niedrigere Werthe, als das mehrstündige Centrifugiren manchmal ergibt (was auch M. u. L. Bleibtreu aufgefallen ist) recht unverständlich sein. Augenscheinlich kommen derartige Unterschiede dadurch zu Stande, dass die Centrifugalkraft den Process der Plasmaausscheidung aus den Blutkörperchen wesentlich beeinflusst, wobei die Anwesenheit der Kalibichromatlösung und sonstiger Flüssigkeiten wahrscheinlich auch nicht ohne Rolle bleibt.

Man darf hoffen, dass weitere Forschung nähere Bedingungen dieser Einwirkung kennen lernen lässt, wodurch auch die Differenzen zwischen den Ergebnissen der einfachen Sedimentation und der hämatokritischen Untersuchung auch eine Bedeutung bekommen. Bis dies geschehen, besitzt die Untersuchung des Blutes mit dem Hämatokrit überhaupt wenig Sinn und Nutzen, vielleicht den Fall ausgenommen, wenn der Hämatokrit bei leukämischem Blute angewendet

wird. Sonst ist aus den hämatokritischen Daten nicht viel zu schliessen: besonders sind etwaige Folgerungen betreffs der Grösse einzelner Blutkörperchen gar nicht zulässig. Eben in dieser Hinsicht erweist sich der Hämatokrit vollkommen werthlos, wie mir die Untersuchung des oligoplasmischen Blutes zeigte: denn es war hierbei das Sediment im Hämatokrit von normaler Grösse (vgl. Tab. I, Ver. 8 und 9; Tab. II, Ver. 7), trotzdem dass die Blutkörperchen bei diesem Zustande grösser als in der Norm sind. Somit kann man nicht mit dem Hämatokrit diese interessante Blutanomalie nachweisen.

Die abweichenden Resultate der hämatokritischen Blutuntersuchung von der einfachen Sedimentation beruhen sowohl bei der Oligoplasmie, als beim defibrinirten und manchem undefibrinirten Blute offenbar darauf, dass die Centrifugalkraft ausser Plasma noch eine andere Flüssigkeit aus den Blutkörperchen herauspresst. Daher möchte ich bei analytischen, besonders quantitativen Untersuchungen über die Blutkörperchen die Anwendung der Centrifugalkraft dringend abrathen. Dafür sprechen auch diejenigen höchst schwankenden Werthe der Trockensubstanz, die von den Schülern von Al. Schmidt (Sommer[1]), Göttschel[2]), Kupffer[3]), Arronet[4]), Schneider[5]) in den Blutkörperchen bestimmt wurde. Die Bestimmungen geschahen hierbei nach der Methode von Al. Schmidt, wo die Blutkörperchenmasse mit 2—2,5% Glaubersalzlösung lange centrifugirt wird. Uebrigens haben auch dieselben Schüler darauf aufmerksam gemacht, dass je länger die Blutkörperchenmasse centrifugirt wird, sie desto mehr Kochsalz verliert. Demgegenüber ist — gemäss allen unseren Auseinandersetzungen — die beste Methode der quantitativen Untersuchung über

---

[1]) Sommer. Zur Methodik der quantit. Blutanalyse. Diss. Dorpat, 1893.

[2]) v. Göttschel, loc. cit.

[3]) Kupffer, loc. cit.

[4]) H. Arronet. Quantitative Analyse des Menschenblutes. Diss. Dorpat, 1887.

[5]) A. Schneider. Zusammensetzung des Blutes der Frauen verglichen mit derjenigen der Männer. Diss. Dorpat, 1891.

die Blutkörperchen die Analyse des Sedimentes aus dem unverdünnten nichtdefibrinirten Blute. Dieses Sediment stellt wie bewiesen eine «echte» reine Blutkörperchensubstanz: in derselben habe ich in Uebereinstimmung mit älteren Daten von C. A. Schmidt in der Norm ca. 32 % Trockensubstanz und ca. 34 % Eiweiss (nach dem N-Gehalt berechnet) bestimmt — gegen die schwankenden Werthe von obenerwähnten Autoren — 35 %—40 % Trockensubstanz.

Somit sind wir zu der Ueberzeugung gekommen, dass die drei Methoden der Blutkörperchenvolumbestimmung — die M. u. L. Bleibtreu'sche Methode, die einfache Sedimentation, und die Untersuchung mit dem Hämatokrit — gar nicht einheitliche Ergebnisse liefern, die miteinander verglichen werden dürften. Wenn nun die Frage beantwortet werden muss, welche Methode sich zu den «volumetrischen» Bestimmungen eignet, so ist eine solche nur die einfache Sedimentation, während wir den Sinn der hämatokritischen Werthe noch nicht kennen. Durch die Sedimentation wird aber nicht — wie erwähnt — das Volum der gesammten Blutkörperchen des circulirenden Blutes, sondern nur das Volum der Blutkörperchensubstanz bestimmt. Neben dieser Methode kann die parallele Untersuchung mit der Methode M. u. L. Bleibtreu's ganz neue und wichtige Gesichtspunkte in der Physiologie und Pathologie des Blutes gewinnen lassen.

Ueber die Oxydation der Eiweissstoffe mit Kaliumpermanganat[1]).

Von

St. Bondzyński und **L. Zoja.**

(Aus dem Laboratorium von Professor Bunge in Basel.)

(Der Redaction zugegangen am 1. Februar 1894.)

Maly's Arbeit über dasselbe Thema[2]) war die Veranlassung zu dieser Untersuchung gewesen. An die planmässige, mit grosser Sorgfalt ausgeführte, mit zahlreichen Versuchsdaten und reichlichem Beweismaterial aus Zahlen versehene Arbeit knüpfte der Verfasser eine Reihe von Gedanken, die wohl im Stande waren, eine weitere Forschung in dieser Richtung anzuregen. Wenn dieselbe nach dem Tode des verdienten Forschers doch ausblieb, wenn die Arbeit in den Lehrbüchern und sonstigen Publicationen über Eiweisskörper nur ehrenhalber erwähnt wird, ohne referirt zu werden, so ist ein gewisses Misstrauen den theoretischen Spekulationen

[1]) Die vorliegende Arbeit konnte nicht soweit geführt werden, wie Anfangs beabsichtigt wurde, da wir aber dieselbe auf unbestimmte Zeit unterbrechen mussten, sollen die gewonnenen Resultate mitgetheilt werden, mit der Bemerkung, dass sie eher als Voruntersuchung gelten möchten.

[2]) «Untersuchungen über die Oxydation des Eiweisses mittelst Kaliumpermanganat», Sitzungsber. der k. Acad. d. Wiss. in Wien, Bd. 91, Abth. II, S. 157 (Jahrg. 1885).

des Verfassers gegenüber daran Schuld gewesen. Wir müssen auch gestehen, dass wir bei unserer Untersuchung nicht von der Idee geleitet wurden, durch die Oxydation der Eiweissstoffe mit Kalipermanganat den stufenweisen Abbau der Eiweissmoleküle verfolgen zu können. Wir haben desshalb auch nur auf die Untersuchung des ersten Oxydationsproduktes, der Maly'schen Oxyprotsulfonsäure uns beschränkt. Béchamp, welcher im Jahre 1856 das Kaliumpermanganat oxydirte, um auf Harnstoff zu fahnden, ist auf eine eiweissähnliche, aber nicht mit Eiweiss identische, in Wasser unlösliche Substanz gestossen. Es erhielt dieselbe auch Lossen[1]), welcher den Harnstoffbefund von Béchamp einer Controlle unterzog, sowie auch Loew[2]). In neuerer Zeit hat Brücke[3]) dieses Oxydationsprodukt in kurzen Zügen aber schon trefflich charakterisirt und dies war die unmittelbare Anregung, welche Maly veranlasste, diesen Körper eingehend zu untersuchen.

Oxydation der Eieralbuminkrystalle. — Die von Maly untersuchte Oxyprotsulfonsäure wurde von ihm aus Eiereiweiss dargestellt. Unsere erste Aufgabe war, die Versuche von Maly ebenfalls am Eiereiweiss zu wiederholen und das erhaltene Oxydationsprodukt auf seine Einheitlichkeit zu untersuchen. Trotz der zahlreichen und gut übereinstimmenden Analysen von verschiedenen Fractionen war die Wiederholung derselben nicht überflüssig, da Maly, welcher in den Schlussfolgerungen von Intactbleiben der Eiweissmoleküle in seiner Oxyprotsulfonsäure sprach, dieselbe ohne Rücksicht auf die zu jener Zeit nicht gelöste Frage der einheitlichen Zusammensetzung des Eieralbumins nicht einmal mit Rücksicht auf das möglicherweise verschieden zusammengesetzte Globulin aus rohem Eiereiweiss darstellte.

Wir haben zur Darstellung der Oxyprotsulfonsäure die nach dem Verfahren von Hofmeister erhaltenen Eieralbuminkrystalle oxydirt, und zwar wurden dazu die einer in unserer

[1]) Sitzungsber. d. k. k. Wien. Acad. d. Wiss. 1881, Abth. II, Bd. 83.

[2]) Loew, «Ueber Eiweiss und die Oxydation desselben», Journ. f. pr. Ch., Bd. 33, S. 145 und 146 (Jahrg. 1885).

[3]) Liebig's Ann. 201, S. 369.

Arbeit «Ueber die fractionirte Krystallisation des Eieralbumins»[1]) beschriebenen Fraction nahe stehenden Krystalle[2]) angewandt.

Der von der Mutterlauge gut getrennte, ammoniumsulfathaltige Krystallbrei wurde in Wasser gelöst und in der Lösung der Eiweissgehalt bestimmt. Die Lösung wurde in der Weise verdünnt, dass sie auf 500 cbcm. 50 gr. Eiweiss enthielt. Sie wurde in zwei Hälften getheilt und jede 25 gr. Eiweiss enthaltend, mit der von Maly als die günstigste bezeichneten (60 gr. Permanganat auf 100 gr. Eiweiss) Menge von 15 gr. in 1 Liter Wasser gelösten Kalipermanganat versetzt. Nach 2 Tagen wurde die ganz klare, schwach gelb gefärbte Flüssigkeit vom Manganniederschlag filtrirt und das Filtrat mit Salzsäure angesäuert. Es wurde ein reichlicher Niederschlag erhalten, welcher mit Wasser gut ausgewaschen wurde. Um ihn sicher vom etwa unverändert gebliebenen Eiweiss zu befreien, wurde seine von Maly beobachtete Löslichkeit in Natriumacetat benutzt; er wurde mit einer 3% Natriumacetatlösung umgerührt, wobei eine vollständige Auflösung stattfand und aus dieser Lösung das saure Oxydationsprodukt wieder mit Salzsäure ausgefüllt werden konnte. Der Niederschlag wurde ausgewaschen und in verdünnter Sodalösung gelöst. Aus dieser Lösung wurden nun durch vorsichtigen Zusatz einer sehr verdünnten Salzsäure 2 Fractionen gefällt, deren Mengen etwa im Verhältniss 3:1 zu einander standen. Es wurden in dieser Weise aus den zwei Eiweissportionen A und B 4 Fractionen des Oxydationsproduktes erhalten. Jede von den gefällten Fractionen wurde noch in Soda gelöst, aus der Lösung durch einen geringen Ueberschuss von Salzsäure zurückgefällt und so lange ausgewaschen, bis das Filtrat nicht die geringste Spur von Chlorreaction gab, was gewöhnlich ein sehr langdauerndes Nachspülen und wiederholtes Zerreiben mit Wasser erforderte. Der Niederschlag wurde dann lufttrocken in einen Trockenkasten gebracht und bei 110° C. bis zum constanten Gewicht getrocknet.

---

[1]) Diese Zeitschr., Jahrg. 1894, S. 1.

[2]) Dieselben wurden nach der Ausscheidung der Krystalle Ba_2 aus der Mutterlauge gewonnen.

Alle Fractionen gaben bei der Analyse gut miteinander übereinstimmende Zahlen

	Präparat A				Präparat B.				Mittelzahlen.	Mittelzahlen von Maly.
	Fraction I.		Fraction II.		Fraction I.		Fraction II.			
C . . .	50,96	50,83	50,23	—	50,79	—	50,87	50,74	50,73	51,21
H . . .	7,16	6,90	6,87	—	7,08	—	7,25	6,89	7,02	6,89
N . . .	14,77	—	—	—	14,79	14,71	14,54	—	14,70	14,59
S . . .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1,77
O . . .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	25,54

und eine Mittelzahl, welche der von Maly erhaltenen nahe steht. Wenn die Analysen unserer Fractionen mit denen der von Maly aus rohem Eiereiweiss erhaltenen Präparate übereinstimmen, so steht das im Einklange mit den Ergebnissen unserer Untersuchung der krystallisirten Fractionen des Eieralbumins, welche keine erhebliche Differenzen in der Zusammensetzung zeigten.

Das Kaliumpermanganat galt von jeher als ein kräftiges Oxydationsmittel, aus der neueren Zeit ist uns aber bekannt, dass man bei vorsichtiger Anwendung sehr gelinde Oxydationen mit diesem Reagens ausführen kann.

Die Arbeiten von Bauer[1]) und Hazura[2]), sowie die gleichzeitig erschienene von Saytzew[3]), haben darauf aufmerksam gemacht, dass man leicht oxydirbare und leicht spalthare Körper, wie es die ungesättigten Fettsäuren von hohem Molekülargewicht sind, mit Kaliumpermanganat oxydiren kann, ohne eine Abspaltung der Kohlenstoffatome zu bewirken, dass vielmehr die im gleichen Sinne verlaufende Reaction so allgemein ist und so regelmässig und glatt verläuft, dass man dieselbe gerade als Methode zum Nachweis der Zahl der un-

[1]) Bauer und Hazura: «Untersuchung über die Hanfölsäure», Monatshefte für Chem., Bd. VII, S. 216, Jahrg. 1886.

[2]) Monatshefte d. Chem., Bd. VIII, S. 147; S. 156 u. 260 (Jarhg. 1887).

[3]) Saytzew: «Ueber die Oxydation der Oel- und Elaidinsäure mit Kaliumpermanganat in alkalische Lösung», Journ. f. prakt. Chem., Bd. 33, S. 300 (Jahrg. 1886).

gesättigten Capacitäten bei der Untersuchung der ungesättigten Säuren der Fette verwenden kann.

Es ist wohl anzunehmen, dass die Reaction des Kaliumpermanganats in dem Sinne der Ablagerung von zwei Hydroxylgruppen an die doppelt gebundenen Kohlenstoffatome zahlreichere Beispiele aufweisen wird[1]). Dass im Eiweissmolekül eine gewisse Zahl von ungesättigten Capacitäten vorhanden ist, lässt sich aus der empirischen Formel schliessen und der geringen Menge der Benzolderivate, welche bei den Zersetzungsversuchen erhalten werden[2]). Durch die Versuche von Loew wurde das sehr wahrscheinlich gemacht. Durch Behandeln des Eiereiweisses mit Brom und Trocknen des erhaltenen Präparates bei 100° C. erhielt Loew ein Bromadditionsprodukt, welches einen Bromgehalt von 24 % zeigte. Ein Theil von dem aufgenommenen Brom konnte mit Natriumsulfit entfernt werden, es blieb aber noch nach dieser Behandlung ein Körper zurück, welcher 16 % Brom enthielt[3]).

An der Hand dieser Erwägungen scheint uns die Annahme von Maly, dass bei der Oxydation von Eiweiss zu Oxyprotsulfonsäure keine Kohlenstoffabspaltung und nur eine Sauerstoffaufnahme stattfindet, nicht unwahrscheinlich. Dies wird auch bestätigt durch das Verhältniss des Kohlenstoffgehaltes zum Stickstoffgehalte, welches wir für Oxyprotsulfonsäure (3,45) wenig differirend vor demjenigen, welches sich aus unseren Eieralbuminanalysen ergibt (3,40), gefunden haben[4]). Hierbei ist allerdings zu bedenken, dass diese einzige Thatsache, über die wir zur Entscheidung dieser Frage verfügen, nicht ganz beweiskräftig ist, da bei der Grösse der Eiweissmoleküle das Verhältniss des Kohlenstoff- zum Stickstoffgehalt nur grobe Veränderungen zum Ausdruck bringen kann.

---

[1]) Vor Kurzem hat F. Tiemann diese Wirkung des Kaliumpermanganats zum Nachweis einer doppelten Bindung in dem von ihm isolirten aromatischen Bestandtheil der Iriswurzel mit Erfolg benutzt. Ber. d. d. chem. Ges., Jahrg. 1893, S. 2688.

[2]) Wir stimmen hier der Ansicht von Loew bei (s. die oben citirte Arbeit Seite 136).

[3]) Citirte Arb. S. 138.

[4]) Oben cit. Arbeit.

Auf dem Gebiete der weiteren theoretischen Auseinandersetzungen können wir Maly nicht folgen; so verlockend sie sind, entbehren sie jeder Grundlage. Dass der nicht oxydirte Schwefel des Eieralbumins zuerst vom Permanganat angegriffen wird, mag schon von vornherein wahrscheinlich sein und wurde auch von Maly bewiesen durch den Befund, dass das Oxydationsprodukt mit Bleioxyd den Schwefel nicht mehr abspalten lässt, dass dagegen der Schwefel gerade unter Aufnahme von 3 Sauerstoffatomen zu Sulfosäure oxydirt worden sei, wurde durch den Nachweis von schwefliger Säure in der Kalischmelze sowie durch die Abspaltung derselben durch Barythydrat nicht sicher gemacht, da unverändertes Eiereiweiss bei der gleichen Behandlung Schwefelsäure unter den Zersetzungsprodukten nachweisen lässt[1]). Ganz willkürlich aber ist die Berechnung der Zahl der bei der Oxydation eingetretenen Sauerstoffatome. Wenn dieselbe aus den besten Analysen sich kaum mit irgend welcher Wahrscheinlichkeit machen lässt, so ist diese Spekulation um so weniger begreiflich, als Maly derselben Mittelzahlen aus vielen, bekanntlich stark von einander divergirenden Analysen des Eiereiweisses zu Grunde gelegt hat, ja sogar diejenige von Serumalbumin in die Rechnung mit eingezogen hat. Unsere Analysen des krystallisirten Eieralbumins ergaben Mittelzahlen, aus welchen man auf 1 Atom Schwefel 28,3 Atome Sauerstoff berechnet, also gerade das Verhältniss, welches Maly für seine Oxyprotsulfonsäure gefunden hat.

Diese weitgehenden Schlüsse bei Seite gelassen, die blosse Annahme, dass das Oxydationsprodukt ein einheitlicher Körper ist und, dass es das ungespaltene Eiweissmolekül beibehalten hat, führt auf den Gedanken, dass verschiedene Eiweissarten bei der gleichen Behandlung verschiedene Oxydationsprodukte liefern werden. Maly hat ausser Eiereiweiss Fibrin, Casein, Kleber und Conglutin oxydirt, die entsprechenden Produkte aber nicht analysirt, sondern aus dem ähnlichen Verhalten geschlossen, dass dieselben immer die gleiche Säure dar-

---

[1]) Schützenberger, Annales de Chimie et de Ph , t. XVI (5) 1879.

stellen; nur ein einziges durch die Oxydation des Blutserumeiweisses bereitetes Präparat wurde von ihm der Analyse unterworfen und die erhaltenen Stickstoffzahlen unter diejenigen der Oxyprotsulfonsäuren aus Eiereiweiss eingereiht. Und doch Maly selbst citirt Analysen von Eier- und Blutserumeiweiss, welche von demselben Forscher (Hammarsten) herrührend, so bedeutende Unterschiede aufweisen, dass mit der Verschiedenheit der Zusammensetzung der Eiweissstoffe der Gedanke von der Verschiedenheit der ihnen so nahe stehenden Oxydationsprodukte sich aufdrängt.

Auch wenn es fest stände, dass die eintretenden Sauerstoffatome zunächst an Schwefel gebunden werden, liessen sich Unterschiede z. B. zwischen Casein oder Hämoglobin, welche den Schwefel als Schwefelblei nicht abspalten lassen, und dem Albumin, welches den Schwefel anders gebunden enthält, denken.

Die ausgesprochen sauren Eigenschaften der Oxydationsprodukte, welche sich vortheilhaft von dem mehr amphoteren Verhalten der Eiweissstoffe unterschieden, die Möglichkeit, Salze von constanter Zusammensetzung leicht darzustellen, dies alles erweckte Hoffungen, von denen wir uns bei unseren Untersuchungen leiten liessen.

Oxydation des Hämoglobins. Wir haben weitere Versuche zuerst mit Hämoglobin ausgeführt. Die einheitliche Zusammensetzung des Ausgangsmaterials schloss eine Quelle der etwa zu erhaltenden analytischen Differenzen aus.

Das Pferdebluthämoglobin wurde zu diesem Zwecke nach der im Laboratorium von Bunge von Zinoffski[1]) ausgearbeiteten Methode dargestellt. Wir haben nach diesem Verfahren uns leicht $1^1/_2$ kgr. reinen (2 Mal umkrystallisirten) Hämoglobins verschaffen können. Da die Darstellung grösserer Mengen eines farbstofffreien Eiweisspräparates aus den Krystallen misslang, wurden dieselben direkt oxydirt. Einige Oxydationsversuche, wo wir das gleiche Verhältniss vom Permanganat zum Eiweiss beobachteten, welches Maly für die Oxydation des Eiereiweisses als das günstigste bezeichnet hat, gaben im

[1]) Diese Zeitschr., Bd. 10, Inauguraldiss. Dorpat.

geringen Ueberschuss von Säure leicht lösliche Produkte, welche also keine ausgesprochen sauren Eigenschaften besassen. Eine folgende Probe von Blutfarbstoff wurde daher mit einer grösseren Menge Permanganat oxydirt. 100 gr. trockenes Pferdebluthämoglobin wurden unter Zusatz von wenigen Tropfen Kalilauge in 1 Liter Wasser gelöst und mit einer Lösung von 80 gr. Permanganat in 3 Liter Wasser versetzt. Schon am folgenden Tag war über dem Manganniederschlag eine klare Flüssigkeit zu beobachten. Dieselbe wurde abfiltrirt vom Manganhyperoxyd, abgepresst und mit Salzsäure versetzt. Es wurde in reichlicher Menge ein schneeweisser flockiger Niederschlag erhalten, derselbe wurde mit Wasser ausgewaschen, in Natriumacetat (3 %) gelöst und die vollkommen klare Lösung wiederum mit Salzsäure gefällt. Dieser Niederschlag wurde nun in verdünnter Sodalösung gelöst und die Lösung der fractionirten Fällung unterworfen. Es wurden 5 Fractionen dargestellt, von denen die erste und letzte sehr gering waren, die mittleren dagegen den grössten Theil des Gesammtniederschlages bildeten. Jede von den erhaltenen Fractionen wurde noch einmal in Soda gelöst und aus der Lösung durch Ansäuern mit Salzsäure zurückgefällt. Es wurde dabei ein verschiedenes Verhalten der extremen Fractionen beobachtet. Die alkalischen Lösungen der ersten 3 Fractionen gaben in verdünnter Säure leicht lösliche, durch concentrirte Säure fällbare Niederschläge; durch concentrirte Salzsäure gefällt, gingen daher die Niederschläge beim Auswaschen mit Wasser reichlich in die Lösung über, so dass in den ersten Waschwasserfiltraten ein Zusatz von concentrirter Salzsäure einen reichlichen Niederschlag erzeugte. Die erste Fraction wurde desshalb um Substanzverluste zu vermeiden, zuerst mit Alkohol, um den grössten Theil der Salzsäure zu entfernen und dann erst mit Wasser ausgewaschen, bei den folgenden Fractionen, wo reichliche Menge Substanz zur Verfügung stand, liess sich dies, wenn auch mit Verlusten, mit Wasser erreichen, indem nach wiederholtem Auswaschen keine Auflösung der Substanz mehr stattfand. Die letzte Fraction zeigte dieses Verhalten nicht, hatte offenbar deutlicher saure Eigenschaften.

Die Fractionen wurden sehr sorgfältig ausgewaschen[1]), bis keine Chlorreaction im Filtrat nachzuweisen war, im lufttrockenen Zustand in einen Trockenkasten gebracht und zwischen 105 und 110 ° C bis zum constanten Gewicht getrocknet.

	Versuch A.							Versuch B.			Mittelzahlen.
	Fract. I.	Fract. II.	Fract III.	Fract. IV.			Fract. V.				
C . .	52,42	52,35	52,41	52,09	52,12	—	51,72	52,55	52,66	52,58	52,32
H . .	7,04	6,83	6,85	6,97	6,98	—	6,98	6,91	6,97	7,12	6,96
N . .	15,91	15,91	16,15	16 45	16,49	15,97	—	—	—	—	16,04
S . .	—	—	—	—	--	—	—	—	—	—	—

Die Analyse ergab eine gute Uebereinstimmung der Stickstoffzahlen, aber gewisse Differenzen im Kohlenstoffgehalte, welche zwar die zulässige Fehlergrenze nicht überschreiten, aber doch Beachtung verdienen, da sie auf eine allmälige Abnahme des Kohlenstoffgehaltes von den ersten bis zu den letzten Fractionen hinweisen. Hämoglobin scheint also eine grössere Menge Permanganat zu erfordern als Eieralbumin und, wie sich weiter ergab, als Casein, um saure Oxydationsprodukte zu liefern. Das liess auch sein geringer Sauerstoffgehalt erwarten. Dass Hämoglobin eine besondere Disposition zur Sauerstoffaufnahme zeigt, geht aus den im Laboratorium von Nencki, von M. Lebensbaum ausgeführten Versuchen hervor, wonach beim Auflösen von Pferdebluthämoglobin in Kalilauge eine allmälige Aufnahme von Sauerstoff bis 6,8 gr. pro 100 gr. Blutfarbstoff beobachtet wurde.

Zur Vergleichung der Zusammensetzung unseres Oxydationsproduktes mit derjenigen des Ausgangsmaterials haben wir für die letztere folgende Mittelzahlen benutzt[2]): C = 54,70%;

[1]) Nur durch pedantisches Auswaschen konnten aschefreie Präparate erhalten werden.

[2]) Der mittlere Kohlenstoff-, Wasserstoff- und Stickstoffgehalt wurde aus den Analysen des Pferdebluthämoglobins von Hoppe-Seyler und Kossel (diese Zeitschrift, Bd. 2), von Otto, von Bücheler, sowie des isomeren Parahämoglobins von Nencki (Archiv f. exp. Pharm. u. Pathol., Bd. XX, S. 337) berechnet. Die Zahlen für Schwefel- und Eisengehalt haben wir der oben erwähnten Arbeit von Zinoffski entnommen.

H = 7,05%; N = 17,31%; Fe = 0,335%; S = 0,389%; O = 20,21%.

Aus den wohl sehr genauen Eisenbestimmungen von Zinoffski lässt sich, unter Berücksichtigung dieser Mittelwerthe, die folgende Molekularformel berechnen: $C_{762}H_{1178}N_{207}O_{211}S_2Fe$.

Nach Abzug der von Nencki[1]) festgestellten Formel des Hämatins, etwa in dem Sinne der Gleichung:

$$C_{762}H_{1178}N_{207}O_{211}S_2Fe + H_2O + O_{10}{}^{2)} - C_{32}H_{32}N_4FeO,$$

erhält man für das Eiweiss des Hämoglobins folgenden Molekularausdruck:

$$= C_{730}H_{1148}N_{203}O_{208}S_1$$

mit der procentischen Zusammensetzung:

C — 54,06%; H — 7,08%; N — 17,54%; S — 0,395%; O – 21,03%.

Das Verhältniss des Kohlenstoffgehaltes zum Stickstoffgehalt, welches sich aus diesen Zahlen zu 3,08 berechnet stimmt zwar nicht genau mit dem, welches aus der Zusammensetzung unseren Oxydationsproduktes folgt (3,25). Da aber eine Differenz in Plus sich ergibt, lässt sich nicht auf eine bei der Oxydation etwa stattgefundene Abspaltung der Kohlenstoffatome schliessen[3]). Die weitere Verfolgung des Oxydationsvorgangs ist wünschenswerth, da die Möglichkeit nahe liegt, dass die zwei Oxydationsprodukte auf Grund des besprochenen verschiedenen Verhaltens sich von einander trennen lassen, oder dass bei einem geringeren oder grösseren Permanganatzusatz, einmal das erste dem Eiweiss näher stehende, oder das zweite mehr saure Oxydationsprodukt zu erhalten ist.

---

[1]) Archiv f. exp. Pathol. und Pharmakol., Bd. XX, S. 326.

[2]) Die oben genannten Versuche aus dem Laboratorium von Nencki ergaben bei der Spaltung des Hämoglobins durch verdünnte Säuren eine Aufnahme von 1 gr. Sauerstoff pro 100 gr. Blutfarbstoff, woraus auf 1 Atom Eisen sich 10 Atome Sauerstoff berechnen lassen.

[3]) Das Resultat macht die Wiederholung der Analyse des Pferdebluthämoglobins nothwendig, da die Uebereinstimmung des Kohlenstoff- und Stickstoffgehaltes bei den Analysen verschiedener Forscher etwas zu wünschen übrig lässt.

Oxydation des Casein.

Ganz andere Resultate ergaben unsere Versuche mit Casein. Das angewandte Casein wurde theils von der Firma Grübler («Casein nach Hammarsten») bezogen (Versuch A), theils von uns selbst nach dem Vorgang von Hammarsten dargestellt (Versuch B). Die Analyse des von uns dargestellten Caseinpräparates ergab mit der von Hammarsten gut übereinstimmende Zahlen.

		Analyse von Hammarsten.
C	52,45 %	52,96 %
H	7,11 »	7,05 »
N	15,44 »	15,65 »
S	0,84 »	0,78 »[1])
P	—	0.85 »[2])
O	—	22,71 »

In zwei Versuchen A und B wurden je 75 gr. Casein mit Kaliumpermanganat oxydirt, wobei genau die gleichen Mengenverhältnisse wie beim Eieralbumin beobachtet wurden. Bald nach dem Uebergiessen mit der Permanganatlösung war das Casein zu einer Gallerte gequollen und gelöst. Nach einigen Tagen stellte die Flüssigkeit eine schwarzbraune Emulsion dar. Da selbst nach 10 Tage langem Stehen keine Absetzung des Manganniederschlages erfolgte und durch das Filter auch eine dunkelbraune Flüssigkeit durchging, wurde ein reichlicher Sodazusatz gemacht, worauf rasch die Abscheidung einer klaren Lösung stattfand, welche durch ein Tuch filtrirt wurde. Das Filtrat gab beim Salzsäurezusatz einen reichlichen Niederschlag, welcher filtrirt, ausgewaschen und weiter, wie die Präparate aus Albumin und Hämoglobin, behandelt wurde. Die Lösung in verdünnter Soda wurde ebenfalls fractionirt gefällt. Die zwei erhaltenen Fractionen wurden auch weiter genau, wie es bei Eieralbumin beschrieben wurde, behandelt. Die Analyse ergab in beiden Versuchen

[1]) Diese Zeitschrift, Bd. 9, S. 297.
[2]) Ebendaselbst, Bd. 7, S. 269.

eine unzweifelhaft verschiedene Zusammensetzung der Fractionen: I. und II. Bemerkenswerth aber ist es, dass bei den

	Versuch A.			Versuch B.			
	Fract. I.	Fract. II.		Fract. I.		Fract. II.	
C % .	51,05	49,11	49,53	51,92	52,07	50,03	49,72
H » .	7,10	6,63	6,65	6,74	6,81	6,39	6,48
N » .	14,90	14,99		14,63	14,91	14,74	14,63
S » .	—	—		0,760		0,714	
P » .	--	—		0,702		—	
O » .	—	—		—		—	

weitgehendsten Veränderungen, welche das Casein bei der Oxydation erlitten hat und welche sich in dem stark herabgesunkenem Kohlenstoff- und besonders Wasserstoffgehalt, und sogar in einer bemerkbaren Veränderung des Schwefelgehaltes kund geben, das Verhältniss des Kohlenstoff- zum Stickstoffgehalte (3,38) demjenigen gleichgeblieben ist, welches wir aus den Mittelzahlen aus unseren, sowie der Hammarsten'schen Analyse berechnen (3,38). Die auffallende Abnahme des Wasserstoffgehaltes deutet darauf hin, dass der Oxydationsvorgang beim Casein ein ganz anderer war als bei den zwei ersten Versuchen. Die feste Bindung des Phosphors, welcher bei der Oxydation nicht abgespalten wurde, verdient auch bemerkt zu werden. Es ist nicht zu erwarten, dass chemisch individualisirte Körper aus dem Gemenge von verschieden zusammengesetzten Oxydationsprodukten sich trennen lassen.

Analytische Belege.

Wir machen Umgang von der Beschreibung der Methoden, indem wir auf das betreffende Kapitel in unserer vor Kurzem in dieser Zeitschrift erschienenen Arbeit verweisen.

Oxydationsprodukt aus Albumin.

Kohlenstoff- und Wasserstoffbestimmungen.

	Substanz gr.	CO_2 gr.	H_2O gr.	C %.	H %.
			Fraction I.		
Versuch A . . .	0,4297	0,8030	0,2772	50,96	7,16
	0,4445	0,8285	0,2764	50,83	6,90
			Fraction II.		
	0.2740	0,5047	0,1695	50,23	6,87

	Substanz gr.	CO_2 gr.	H_2O gr.	C %.	H %.
	Fraction I.				
Versuch B . . .	0,4817	0,8972	0,3072	50,79	7,08
	Fraction II.				
	0,3227	0,6020	0,2107	50,87	7,25
	0,2168	0,4034	0,1345	50,74	6,89

Stickstoffbestimmungen. Gasometrisch.

	Substanz gr.	N cbcm.	°C.	Barometerstand mm.	N %.
	Fraction I.				
Versuch A	0,3439	44,2	16	748	14,77
	Fraction I.				
Versuch B . . .	0,4437	57,4	16,4	746	14,79
	Fraction II.				
	0,4028	51,0	15,8	748	14,54

Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl.

Fraction I.

Versuch B. 1,0387 gr. Substanz. 25 cbcm. $^1/_2$ N-Säure mit 16,3 cbcm. $^1/_{10}$ N-Lauge zurücktitrirt 14,71 % N.

Oxydationsprodukt des Hämoglobins.

Kohlenstoff- und Wasserstoffbestimmungen.

	Substanz gr.	CO_2 gr.	H_2O gr.	C %.	H %.
	Fraction I.				
Versuch A . . .	0,2789	0,5361	0,1769	52,42	7,04
	Fraction II.				
	0,2931	0,5627	0,1803	52,35	6,83
	Fraction III.				
	0,1981	0,3807	0,1222	52,41	6,85
	Fraction IV.				
	0,3602	0,6880	0,2260	52,09	6,97
	0,3371	0,6443	0,2118	52,12	6,98
	Fraction V.				
	0,2936	0,5568	0,1845	51,72	6,98
Versuch B . . .	0,3653	0,7040	0,2275	52,55	6,91
	0,4170	0,8052	0,2617	52,66	6,97
	0,2918	0,5627	0,1870	52,58	7,12

Stickstoffbestimmungen. Gasometrisch.

	Substanz gr.	N cbcm.	°C.	Barometerstand mm.	N %.
	Fraction I.				
Versuch A . . .	0,4210	58,25	15,8	748	15,91
	Fraction II.				
	0,4035	56,3	17	745	15,91
	Fraction III.				
	0,2267	32,1	17	746	16,15
	Fraction IV.				
	0,4862	69,8	16,8	748	16,45
	0,4223	60,8	16,8	748	16,49

Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl.
Fraction IV.

0,7940 gr. Substanz, 20,9 cbcm. $^1/_2$ N-Säure, mit 13,9 $^1/_{10}$ N-Lauge zurücktitrit 15,97 % N.

Oxydationsprodukt aus Casein.

Kohlenstoff- und Wasserstoffbestimmungen.

	Substanz gr.	CO^2 gr	H_2O gr.	C %.	H %.
Versuch A . . .	Fraction I.				
	0,3543	0,6633	0,2267	51,05	7,10
	Fraction II.				
	0,3175	0,5730	0,1895	49,21	6,63
	0,3474	0,6310	0,2080	49,53	6,65
Versuch B . . .	Fraction I.				
	0,3787	0,7210	0,2300	41,92	6.74
	0,4054	0,7741	0,2485	52,07	6,81
	Fraction II.				
	0,4484	0,8226	0,2580	50,03	6,39
	0,4514	0,8234	0,2633	49,72	6,48

Stickstoffbestimmungen. Gasometrisch.

	Substanz gr.	N cbcm.	°C.	Barometerstand mm.	H %.
Versuch A . . .	Fraction I.				
	0,4530	61,0	21,6	738	14,90
	Fraction II.				
	0,3900	52,7	20.3	743	14,99
Versuch B . . .	Fraction I.				
	0,3881	50,6	21,6	748	14,63
	0,3218	42,2	18,3	747	14,91
	Fraction II.				
	0,4721	61,7	19,8	746	14,74
	0,4251	55,0	18,4	744	14,63

Schwefel- und Phosphorbestimmung.
Präparat A.

Fraction I.

7,9932 gr. Subst.
0,4420 » $BaSO_4$ — 0,760 % S.
0,2009 » $Mg_2P_2O_7$ — 0,702 % P:

Fraction II.

4,7223 gr. Subst.
0,2458 » $BaSO_4$ — 0,714 % S.

Casein.

2,7651 gr. Subst. 0,1695 gr. $BaSO_4$ — 0,84 % S.

Kohlenstoff- und Wasserstoffbestimmung.

0,6038 gr. Substanz. 1,1614 gr. CO_2. 0,3815 gr. H_2O. 52,45 % C. 7,11 % H.

Stickstoffbestimmung.

0,3904 gr. Substanz 53,7 cbcm. N. 20,6 C. 744 mm. Barometerstand. 15,42 % N.

Chemische Untersuchungen über osteomalacische Knochen.

Von

Moritz Levy.

(Der Redaction zugegangen am 16. Februar 1894.)

Aenderung in der normalen Zeichnung des Knochengewebes und Aenderung in seiner chemischen Zusammensetzung charakterisiren in der Hauptsache den osteomalacischen Process. Wenn wir auch gerade über den ersten Punkt durch die jüngst erschienene Arbeit von v. Recklinghausen[1]) genauer unterrichtet worden sind und wichtige Aufschlüsse besonders über die feineren Structurverhältnisse erhalten haben, so haben die vorhandenen Analysen uns bis jetzt kein klares Bild von der chemischen Seite der Krankheit zu verschaffen vermocht, da sie z. T. zu Resultaten geführt haben, die in diametralem Gegensatz zu einander stehen und desshalb zu lebhaften Erörterungen Anlass gegeben haben.

Sehen wir zunächst ab von den älteren Untersuchungen wie Rees[2]), Solly[3]), Baruel fils[4]) und später Ragsky[5]) und eine solche von C. G. Lehmann[6]), die lediglich osteomalacische Knochen verbrannten, aus der nachherigen Gewichtsabnahme einen Vergleich zwischen der organischen und unorganischen Substanz anstellten und aus dem gewonnenen

[1]) Die fibröse Ostilis, die Osteomalacie und die osteoplastische Carcinose in ihren gegenseitigen Beziehungen. Festschrift der Assistenten R. Virchow's, Berlin 1891.

[2]) St. Guy's Hosp. Reports 1835.

[3]) Transactions of the royal Society, p. 435, London 1844.

[4]) Cit. in Beylard, Du rachitisme, de la fragilité des os, de l'ostéomalacie, Paris 1852, und in Ziemssen's Handbuch der Pathol. u. Therap. XIII (Senator).

[5]) Rokitansky, Handbuch der pathol. Anat., Bd. II.

[6]) Schmidt's Jahrbücher der ges. Med., Bd. XXXVIII, S. 280.

Resultate zu dem Schlusse kamen, dass die mineralischen Bestandtteile abgenommen hatten, so finden wir bei den späteren Autoren bereits nähere Angaben über die einzelnen chemischen Elemente. In dieser Hinsicht sind eigentlich Bostock[1]) und Prösch[2]) die ersten, die detaillirte Untersuchungen über diesen Gegenstand bringen. Aus ihren, sowie aus den Angaben der gleich zu erwähnenden Autoren geht im Grossen und Ganzen eine Thatsache hervor, dass sie, je nach dem Grad der Krankheit, eine mehr oder weniger grosse Zunahme der organischen Substanz bezw. des Fettes, das im Endstadium die ganze Knochenhöhle sozusagen ausfüllt, auf Kosten der mineralischen Bestandteile constatirten. Bogner's[3]) Analysen sind sehr ungenau, noch vielmehr die von Volkmann[4]) erwähnte Analyse von Lorinzer, da sie beide sich durchaus nicht mit den Verhältnissen im normalen Knochen, geschweige denn mit den übrigen Untersuchungen von osteomalacischen Knochen in Einklang bringen lassen. Gerster[5]) schloss aus der Thatsache, dass der alkalische Inhalt des osteomalacischen Knochens nach dem Kochen sauer reagirte, diese Reaction sei auch während des Lebens vorhanden gewesen und infolge der Verwesung sei NH_3 entstanden. — Analysen hat er nicht gemacht. v. Bibra[6]) hat unter seinen zahlreichen Untersuchungen von normalen und pathologischen Knochen auch einige über die in Rede stehende Krankheit mitgetheilt. Baruel fils und später besonders Huppert[8]) machen auf einen hohen Eisengehalt aufmerksam. Es folgen nun eine Reihe von Untersuchungen, die angeblich einen der ursprünglichen Knochensubstanz fremden Stoff, die Milchsäure, fanden, der sie die Lösung der Knochensalze zu-

---

[1]) Simon's med. chir., Bd. II., S. 506.

[2]) Prösch, Comment. inaug. de osteomal. adult., Heidelb. 1835.

[3]) Valentin's Repert. 1842, S. 294.

[4]) Pitha und Billroth, Handbuch der Chir., II, 2. Erlangen 1865.

[5]) Archiv f. physiol. Heilkunde VII, S. 146—148.

[6]) v. Bibra, Chemische Untersuchungen über Knochen und Zähne, Schweinfurt 1844.

[7]) L. c. bei Beylard.

[8]) Archiv f. Heilkunde, 1867, IV, S. 345.

schrieben. Carl Schmidt[1]) entdeckte sie zuerst im Knochenmark einer an Osteomalacie gestorbenen Frau, und in den späteren Mitteilungen dreht sich die ganze Frage darum, ob wirklich Milchsäure, resp. deren Kalksalz vorhanden ist oder nicht. Eine Reihe von Autoren wollen sie mit grosser Bestimmtheit in den Knochen nachgewiesen, ja sogar quantitativ bestimmt haben (Weber[2]), Mörs und Muck[3]), Drivon[4]), Steiner[5]), während andere sie ebenso entschieden in Abrede stellen (Virchow[6]), Mommsen und Langendorf[7]), Huppert[8]). Wir werden im Verlaufe unserer Darstellung auf alle die genannten Analysen, soweit sie in gewissem Sinn den heutigen Ansprüchen einer chemischen Analyse genügen und insbesondere auf die Milchsäurefrage genauer eingehen, nur im Allgemeinen möchte ich bemerken, dass manche Untersuchungen an dem Uebelstand leiden, dass sie nicht mit dem frischen Material vorgenommen worden sind, sondern erst, nachdem die Leichenteile verschiedene Behandlungen durchgemacht hatten. Auch der Vorwurf kann gewissen Analysen nicht erspart werden, dass sie nicht mit der nötigen Sorgfalt in der Reinigung des Materials angefertigt worden sind, was im Befunde von Substanzen, die der eigentlichen Knochensubstanz fremd sind, wie S (Knorpel und Bänder), Fe (Blut), Na (Lymphe) zum Ausdruck kommt, Befunde, die dann auf Rechnung der unorganischen Bestandteile gestellt wurden. Diesem Umstand schenken wir heutzutage mehr Aufmerksamkeit.

Eine wesentliche Differenz liegt aber zwischen Knochenanalysen jüngeren und älteren Datums insofern, als wir heut-

---

[1]) Ann. d. Chem. u. Phys., Bd. LXI, 1847, S. 281.

[2]) O. Weber, Dissert. inaugural. praemio ornat. Bonna 1851; Habilitationsschrift; Virchow's Archiv, Bd. XXXVIII, 1867, S. 1.

[3]) Archiv f. klin. Med., Bd. V, 1869.

[4]) Gaz. méd. de Lyon 1867.

[5]) Ueber die pathol. anatom. Veränderungen bei der Osteomalacie. Inaug.-Diss. Zürich 1869.

[6]) Virchow's Archiv, Bd. IV.

[7]) Ibid., Bd. L.

[8]) L. c.

zutage die Knochensalze nicht als ein blosses Gemenge von Salzen, eine Summe von Basen und Säuren, die einander ergänzen, betrachten, sondern mehr ihr gegenseitiges Verhältniss betrachten. Uns scheinen die Fragen viel eher der Antwort bedürftig, ob gewisse Relationen zwischen dem Kalk und der Phosphorsäure vorhanden sind, ob das einzelne Salz basischer oder saurer Natur ist u. A. m., Fragen, auf deren Bearbeitung Arbeiten von Heintz[1]), Hoppe-Seyler[2]), Rammelsberger[3]), v. Recklinghausen[4]), Wildt[5]), Aeby[6]), Gabriel[7]) hinzielen.

Die Pathologen haben sich fortwährend bis in die letzte Zeit mit der Osteomalacie beschäftigt, aber die jüngsten chemischen Analysen reichen nur bis 1877 hinauf. Es war daher interessant, zu erfahren, ob und inwieweit Beziehungen zwischen den unterdessen gemachten Erfahrungen auf pathologischem Gebiet und den vorhandenen Analysen — soweit sie brauchbar sind — existirten, sowie, ob neue Analysen weitere Gesichtspunkte für den osteomalacischen Process zu eröffnen im Stande wären.

Auf die Anregung des Herrn Prof. Hoppe-Seyler ergriff ich die Gelegenheit, an der Hand eines Falles von Osteomalacie Untersuchungen hierüber anzustellen. Mein Bestreben war durch zahlreiche Parallelanalysen von ganz frischem Material zu ermitteln, inwieweit die unorganischen Bestandteile durch den osteomalacischen Process Veränderungen erlitten, welche Unterschiede in der Zusammensetzung der einzelnen Salze unter sich und in den verschiedenen Teilen des Knochens bestünden und ob und inwieweit auch Alterationen der organischen Substanz mitspielten.

Das Material stellte mir Herr Prof. v. Recklinghausen gütigst zur Disposition; derselbe erlaubte mir auch die Ver-

[1]) Poggendorf's Annalen, Bd. 77, S. 267.
[2]) Virchow's Archiv, Bd. XXIV, 1862, S. 13.
[3]) Poggendorf's Annalen, Bd. 64.
[4]) Virchow's Archiv, Bd. XIV, 1858, S. 466.
[5]) Dissert. inaug. Leipzig, 1872. Philos. Facult.
[6]) Journal f. prakt. Chemie, Bd. 5, 6, 7, 9.
[7]) Zeitschrift f. physiol. Chemie, Bd. XVIII, 1893, S. 257 ff.

öffentlichung des Sectionsprotocolls, wofür ich ihm an dieser Stelle meinen aufrichtigen Dank ausspreche.

Aus dem Obductionsbericht entnehmen wir Folgendes:

Section am 2. Mai 1893.

Pauline C. . . ., 73 J.

Sehr kleine, stark abgemagerte Leiche, starke Kyphoskoliose nach links im Brusttheil, starke Trichterbrust, keine Schwangerschaftsnarben. Zwerchfell rechts 4. Rippe, links im vierten Intercostalraum. Brustbein mit dem Messer sehr leicht zu schneiden, starke Osteoporose. Im Herzbeutel klare Flüssigkeit, im Herzen ziemlich viel dunkel geronnenes Blut, wenig Speckhaut, ebenso in den grossen Gefässen. Beide Ventrikel klein, Herzfleisch von deutlich brauner Farbe, nichts von Myocarditis, leichte Verdickung des Endocards, geringe Verwachsung an der Basis der Aortenklappen, gelblich weisse Flecken am Anfangstheil der Aorta ascendens. Coronaria dextra hat doppelten Ursprung, vereinigt sich bald zu einem Stamm, der im Anfangstheil eine stärkere Verdickung der Wand und gelbliche Färbung derselben zeigt, jedoch keine Veränderung des Lumens. An der linken nur ganz leichte gelbe Flecken. Hellgefärbter, glasiger Schleim im Pharynx und im Introitus laryngis; kleine Varizen in der Schleimhaut des Oesophagus. Geringe Arteriosklerose des Aortenbogens und der Aorta descendens. Die ganze Trachea und Verzweigung des Bronchialbaums sind vollständig ausgefüllt mit einem dickeitrigen, zähen Schleim, der zugleich rötliche Streifen enthält. Die beiden Unterlappen der Lungen sind vollständig atelektatisch, auf Druck entleeren sich zahlreiche kleine Eiterpfröpfe, entsprechend den kleineren Bronchien. Die Oberlappen, mässig lufthaltig, entleeren auf Druck eine schaumige Flüssigkeit. Deutliches Randemphysem der Oberlappen. Die Bronchien im ganzen weit, ihre Schleimhaut intensiv geröthet. In der Pulmonalart. nur dunkelschwarze Gerinnsel. Sehr kleine, ziemlich platte Schilddrüsenlappen, schiefrige Flecken durch die ganze Lunge zerstreut, schiefrige Färbung der vergrösserten Bronchialdrüsen. Milz sehr blass, schlaff, ziemlich grosse, verwaschene Follikel, starker Fettgehalt der Nebennierenrinde. Linke Nierenkapsel

leicht abzuziehen, die Niere im ganzen klein, die Oberfläche nur ganz schwach höckerig, Rinde und Marksubstanz ziemlich gleichmässig verteilt. Die r. Niere etwas über die Fläche gebogen, entsprechend der Verwölbung der Wirbelsäule, im übrigen jedoch wie die linke. Ebenso die rechte Nebenniere wie die linke. Im Magen dunkle, schwarze Massen und flüssiger Inhalt, die Schleimhaut glatt, ziemlich blass. Aus der Papille entleert sich auf Druck ein gelber Pfropf. In der Gallenblase dunkelgefärbte, ziemlich zähflüssige Galle. Die Leber sehr klein, der linke Lappen von dem rechten ziemlich stark abgeschnürt und ziemlich platt, so dass er von dem rechten in ungefähr Fingerbreite überragt wird. Auf dem Durchschnitt deutlich acinöse Zeichnung und Braunfärbung des Parenchyms. Die Oberfläche der Leber ist glatt. Ziemlich starke varicöse Dilatation der V. lienalis, partielle sklerotische Verdickung der Wand. Andeutung von Kartenherzform am Becken. In der stark zusammengezogenen Blase wenige Tropfen eines trüben Inhalts, starke Varizenbildung am Anus. Der rechte Eierstock stark vergrössert, enthält deutlich fluctuirende Cysten, der linke ziemlich klein und glatt. Geringe varicöse Dilatation an den Venen der Urethra; verhältnissmässig enge, ziemlich glattwandige Scheide. Im Cervix und in der Uterushöhle ein schleimiger, flüssiger Inhalt. Uterus sehr klein. Glatte Schleimhaut mit einzelnen flachen Erhebungen. Der Cervix überragt an Länge den Uteruskörper. Schädeldach etwas dünn, trotzdem ganz undurchsichtig. Auf der Sägefläche fast im ganzen Durchmesser fein porös, die Oberfläche des Schädeldaches ganz fein gestrichelt, sehr bunt gefleckt und sehr deutliche Gefässzeichnungen. Mit dem Messer lassen sich mit Leichtigkeit dicke Späne abschneiden. Ziemlich starke Neigung des Clivus, die juga cerebralia nicht besonders stark entwickelt. Leichte Sklerose der Basilarart., geringe Verdickungen der Pia, doch leicht im Zusammenhang abziehbar. In beiden Telae chorioideae bohnengrosse Cystenbildung. Ventrikel eng und leer. Gehirn im ganzen klein, Gehirnwindungen etwas schmal, von steifer Consistenz, sonst keine Veränderung. Im Darm keine Veränderung.

Diagnose: Kyphoskoliose, Trichterbrust, Lungenemphysem, starke Bronchitis, senile Atrophie der übrigen Organe, Varizen, Osteomalacie.

Zur Untersuchung gelangte ein Femur. Nachdem dasselbe durch Präparation sorgfältig von Periost, Bändern und Sehnen soweit als möglich gereinigt war, wurde die innere, zum grössten Teil aus Fett und spärlichen Spongiosaresten bestehende Partie mechanisch, so gut es anging, befreit. Sodann teilte ich den Knochen zum Zweck der speciellen Untersuchung in Compacta, reine Spongiosa und Spongiosa vom Schenkelhals, zerkleinerte die einzelnen Teile mit Scheere und Messer, was sehr leicht geschehen konnte in kleinste Stücke und extrahirte das Fett vollständig mit Aether. Von den so vorbereiteten Teilen wurden einzelne Portionen bei 100—110° bis zu constantem Gewicht im Luftbad getrocknet, gewogen und dann der Analyse unterworfen. Der Gang derselben im einzelnen war kurz folgender: Die CO_2 wurde nach der von Hoppe-Seyler (Handbuch d. chem. Analys. 1893, S. 321) angegebenen Methode bestimmt. Diese Methode wurde gewählt, weil sich neuerdings erwiesen hat, dass die möglichst vollständige Gewinnung der CO_2 nur erreicht werden kann durch einen, längere Zeit durch die saure Flüssigkeit geleiteten, CO_2 freien Luftstrom[1]). Die salzsaure Lösung wurde alkalisch gemacht, die gefällten Phosphate des Ca und Mg durch Essigsäure wieder aufgelöst, durch Ammoniumoxalat Ca gefällt und aus dem Wert des durch Glühen im Hempel'schen Ofen erhaltenen CaO das Ca berechnet. Das von Ca befreite Filtrat wurde zur Fällung der Mg mit NH_3 im Ueberschuss versetzt und als $MgNH_4PO_4$ gefällt. Aus dem durch Glühen erhaltenen $P_2O_7Mg_2$ wurde die Mg und die Phosphorsäure berechnet, letztere zur andern, die hierauf in der übrig gebliebenen Lösung durch ammoniakalische Magnesiamischung gefällt und als $Mg_2P_2O_7$ geglüht worden war, hinzuaddirt und als $(PO_4)_2Ca_3$ berechnet. Die Mg berechnete ich als CO_3Mg, die CO_2 als CO_3Ca. Auf diese Weise erhielt ich folgende Resultate:

---

[1]) Vergl. Petterson, Berichte der deutschen chemisch. Gesellschaft, Bd. XXII, S. 1434.

Tabelle …

No.	Gewicht der analys. Substanz.	CO_2 gefunden.	CO_2 %.	CaO gefunden.	Ca %.	$P_2O_7Mg_2$ gefunden.	PO_4 %.	Mg…
I.	0,4416	0,0171	5,2805	0,154	24,913	0,003	0,5814	0,07…
II.	0,4762	0,0194	5,5555	0,1668	25,02	0,0038	0,68295	0,08…
III.	0,4618	0,0188	5,5515	0,1626	25,15	0,002	0,37066	0,04…
IV.	0,7604	0,0289	5,1828	0,2663	25,015	0,011	1,238	0,15…
V.	0,8204	0,0331	5,5018	0,2864	24,935	0,01	1,0432	0,13…
VI.	0,773	0,0299	5,2746	0,271	25,041	0,0068	0,7529	0,09…
VII.	0,7364	0,0257	4,759	0,2564	24,87	0,0052	0,60436	0,07…
VIII.	0,734	—	—	0,2546	24,776	0,0096	1,1194	0,14…
IX.	0,8134	—	—	0,2862	25,133	0,062	0,65237	0,08…
X.	1,2018	0,0432	4,902	0,4212	25,035	—	—	—
XI.	0,794	0,0386	6,629	0,278	25,009	0,0026	0,28027	0,035…
XII.	1,364	0,0496	4,9588	—	—	0,0146	0,9161	0,1157…
XIII.	0,5935	0,0202	4,6412	0,2068	24,89	—	—	—
XIV.	0,86	—	—	0,3007	24,975	0,02	1,9904	0,251…
XV.	0,4077	—	—	0,1402	24,563	0,0038	0,7977	0,1007…
XVI.	0,6534	—	—	0 2286	24,99	0,0078	1,0217	0,1290…
XVII.	0,432	—	—	0,1538	25,43	0,002	0,39623	0,0500…
XVIII.	0,334	—	—	0,1174	25,109	0,0054	1,3837	0,1747…
XIX.	0,424	—	—	0,1526	25,707	0,0068	1,3726	0,173…

B. Sp…

No.	Gewicht der analys. Substanz.	CO_2 gefunden.	CO_2 %.	CaO gefunden.	Ca %.	$P_2O_7Mg_2$ gefunden.	PO_4 %.	Mg…
I.	0,2312	0,0054	3,185	0,0651	20,112	0,0032	1,846	0,1496…
II.	0,2428	0,0058	3,2575	—	—	0,0008	0,282	0,0356…
III.	0,1892	0,0031	2,2343	0,0544	20,538	0,0016	0,7237	0,0914…
IV.	0,2034	—	—	0,0586	20,579	0,0014	0,5891	0,0744…
V.	0,3242	—	—	0,093	20,49	0,002	0,528	0,0666…
VI.	0,2148	—	—	0,059	19,62	0,0016	0,6375	0,080…
VII.	0,1812	—	—	0,0506	19,946	0,0003	0,1417	0,017…
VIII.	0,2178	—	—	0,0638	20,92	0,0014	0,5501	0,0694…

C. Spongi…

No.	Gewicht der analys. Substanz.	CO_2 gefunden.	CO_2 %.	CaO gefunden.	Ca %.	$P_2O_7Mg_2$ gefunden.	PO_4 %.	Mg…
I.	0,274	0,0055	2,7373	0,075	19,551	0,0014	0,4373	0,055…
II.	0,2786	0,0088	4,3073	0,0912	20,306	0,0016	0,49152	0,062…
III.	0,2066	—	—	0,0559	19,326	0,0009	0,37283	0,047…
IV.	0,2703	—	—	0,0778	20,506	0,0034	1,045	0,132
V.	0,2838	0,083	3,988	0,0785	19 757	0,0015	0,28532	0,0571…

[1]) Die Differenzen rühren davon her, dass die CO_2 nicht überall gleichmässig ausgetrie…

Compacta.

…Mg_3 …nden.	PO_4.	Gesammte PO_4.	$(PO_4)_2Ca_3$.	CO_3Mg.	CO_3Ca.	Summe des an CO_3 und PO_4 gebundenen Ca.	Verhältniss der org. zur unorg. Substanz.
692	32,792	33,3734	54,4486	0,25705	8,495	24,473307	—
826	32,818	33,50095	54,66	0,30194	8,8996	24,71882	—
814	33,62	33,99066	55,45577	0,16387	9,0576	25,08821	—
918	32,144	34,082	55,607	0,64737	7,9864	24,71958	—
16	32,965	34,0082	55.4881	0,4612	8,6206	24,928125	—
12	34,544	35,2969	57,59	0,33286	8,3947	25,651	—
935	34,111	34,71536	56,64205	0,2672	7,6136	24,97215	—
814	32,81	33,9294	55,3663	0,49488	—	—	—
088	32,492	33,14437	54,0784	0,28841	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—
27	35,247	35,52727	57,96728	0,1239	10,9	26,79951	—
296	33,23	34,1461	55,714	0,405	7,603953	24,609481	—
—	—	—	—	—	—	—	—
2	32,045	34,0354	55.5314	0,87996	—	—	—
564	32,832	33,6297	54,8715	0,35267	—	—	39,122 [1]) 60,878
512	32,903	33,9247	55,35	0,4517	—	—	—
22	34,115	34,51123	56,308	0,17518	—	—	36,954 63,0536
54	34.695	36,0787	58,8676	0,61174	—	—	—
282	34,952	35,3246	57,634	0,60683	—	—	—

…a.

732	27,097	28,2816	46,143	0,5237	4,7	19,9514	—
8	28,2	28,482	46,4701	0,12467	5,2808	20,10035	—
59	26,688	27,4117	44,725	0,32	2,35	18,253376	—
656	27,602	28,1911	45,996	0,26044	—	—	54,376 [1]) 45,624
004	26,504	27,032	44,104	0,23343	—	—	51,62 48,32
668	26,616	27,2535	44,4701	0 28185	—	—	51,583 48,417
578	27,3	27,4417	44,7742	0,062646	—	—	—
692	27,193	27,7431	45,2646	0,243215	—	—	—

… Schenkelhals.

648	26,49	26,9273	43,9315	0,19334	4,332	18,737	—
1	27,955	28,44652	46,42	0,21781	6,92	20,7414	—
672	27,838	28,21083	46,03	0,164829	—	—	—
899	28,465	29,51	48,148	0,462	—	—	—
885	26,69	26,97542	44,01	0,20099	6,407	19,88295	—

…n ist. Mit CO_3NH_4 ist der Rückstand nicht befeuchtet worden.

Bevor ich zur Besprechung der Resultate übergehe, will ich zuvor noch bemerken, dass ich auf Cl und Fl wegen ihres geringen Gehaltes in den normalen Knochen nicht untersucht habe. Die Cl-Menge beträgt nach den neuesten sorgfältigen Untersuchungen von Carnot[1]) und von Gabriel[2]) normaler Weise 0,06 bezw. 0,01 %. Was das Fl anbetrifft, so sind die Angaben von Zalesky[3]) und neuerdings von Carnot[1]), beide nach verschiedenen Methoden ausgeführt, fast ganz übereinstimmend 0,229 % bezw. 0,17 %. Die neuesten zahlreichen Untersuchungen von Gabriel wollen es wahrscheinlich machen, dass der Höchstgehalt an Fl 0,05 % beträgt. Dass Gabriel gegenüber den eben genannten Autoren die Werte von Fl und Cl noch viel geringer findet, liegt wohl an seiner Behandlungsmethode; denn die geringen Zahlen von Fl und Cl liegen überhaupt schon innerhalb der analytischen Fehlergrenzen und es frägt sich daher, ob nicht gerade aus dem Grunde bei seiner Behandlung der Knochen mit Glycerinkalilauge bei 200° diese Substanzen in freilich geringer Menge ausgetrieben werden.

Indem wir nun auf die eigentliche Besprechung der durch die Analysen ermittelten Werthe kommen, so finden, was zunächst die Differenzen der einzelnen Zahlen unter sich angeht, dieselben ihre Erklärung dadurch, dass wir in der Osteomalacie keinen sich gleichmässig über alle Teile verbreitenden Process erblicken, sondern dass einzelne Teile früher und intensiver davon ergriffen werden als andere. Ausserdem haben die von v. Recklinghausen gemachten Untersuchungen den Beweis erbracht, dass trotz des überwiegenden Abbaus von Knochensubstanz bei der Osteomalacie auch Knochenneubau an gewissen Stellen vorhanden ist, so dass manche Zahlen diesem Verhältniss Ausdruck verleihen. Auf diesen Punkt werden wir später noch ausführlicher zu sprechen kommen. (S. 265.)

---

[1]) Comptes-Rendus de l'Académie des Sciences, Bd. CXIV, p. 1189.
[2]) L. c., p. 281.
[3]) Med. chem. Untersuchungen von Hoppe-Seyler, S. 17.

Stellen wir die gefundenen Resultate den zahlreichen über normale Knochen gemachten Angaben gegenüber, so zeigt ein Blick auf die nachfolgende Tabelle, dass wir, ebenso wie die früheren Autoren gefunden haben, es mit einer Abnahme der Salze im Allgemeinen zu thun haben.

Tabelle II.

Autor.	Ca.	PO_4.	CO_3.	Mg.	CO_3Ca.	$(PO_4)_2Ca_3$.	CO_3Mg.	Bemerkungen.
intz.	38,52	52,98	6,04	0,57	7,646	86,44	1,995	Ochs.
	38,52	53,29	5,65	0,58	7,0	86,95	2,03	Hammel.
	38,59	53,75	5,44	0,48	7,6	87,69	1,68	I. } Mensch.
	38,56	53,87	5,51	0,48	7,16	87,89	1,68	II. } Mensch.
lesky.	40,13	52,16	7,81	0,29	11,806	85,104	1,015	Mensch.
	40,69	53,25	8,45	0,28	12,91	87,29	0,98	Ochs.
	39,6	53,69	7,19	0,37	10,44	87,6	1,295	Schildkröte.
leckling-hausen.	38,41	56,2	4,85	0,54	5,83	91,7	1,89	Schädel 3 Tage alt.
	36,43	56,96	6,02	0,59	7,63	92,93	2,03	Schädel 14 Tage alt.
	37,66	54,81	7,06	0,47	9,86	89,43	1,61	Femur.
	37,98	54,86	6,88	0,28	10,3	89,51	0,98	Cortic. } 6 Jahr alt.
	37,97	56,73	4,97	0,33	6,616	92,56	1,33	Epiphys. } 6 Jahr alt.
ldt.	37,99	54,91	4,98	0,42	6,55	89,59	2,47	Gleich nach der Geburt.
	38,83	51,72	7,72	0,25	11,825	84,39	0,875	Beim 3 bis 4 Jahre altem Tiere.
rnot.	37,968	54,738	6,108	0,432	6,713	89,31	1,512	Femurkörper } Mensch.
	37,707	55,124	5;538	0,481	7,226	89,95	1,6835	Femurhals } Mensch.
	37,92	53,649	7,176	0,421	10,206	87,53	1,4735	Ochs (Femur).
briel.	37,13	53,12	4,404	0,318	6,015	86,67	1,113	Zahnschmelz } Rind.
	35,97	51,65	5,413	1,098	4,443	84,27	3,843	Zahnbein } Rind.
	36,65	49,04	7,999	0,462	11,405	80,01	1,617	Humerus v. Mensch.
	36,63	50,12	6,9	0,63	8,875	81,77	2,205	Femur v. Rind.
	36 436	51,1	5,604	0,762	6,165	83,37	2,667	Gans sämmtl. Kn.
	36,18	51,89	5,213	0,912	4,888	84,66	3,192	Rinderzähne (Glycerinasche).
	36,257	52,02	5,672	0,912	5,653	84,87	3,192	
	38,336	55,594	5,213	0,882	5,013	90,7	3,087	Rinderzähne, M. W.

$(PO_4)_2Ca_3$ und CO_3Ca, die Hauptverbindungen, stellen in der Compacta, den Zalesky'schen Angaben, z. B. gegenüber ein Minus 29,134% bezw. 3,196%, auf die Aschenbestand-

teile berechnet, dar. Diese Verminderung, so lehrt der Vergleich von Compacta und den Spongiosae, ist grösser in der letzteren als in der ersteren, der Process ist also höchst wahrscheinlich als ein von dem Mark nach der Peripherie und der Epiphyse zu fortschreitender zu betrachten. Am meisten wird wohl dasjenige Factum in die Augen springen, so zeigen die Tabellen weiter, dass gerade die Phosphate durchweg eine nicht unbedeutende Abnahme erfahren haben, ohne dass jedoch hierbei die normalen Proportionen zwischen Phosphorsäure und CO_2 in den gesunden Knochen eine Veränderung zu erleiden brauchten. Auf diese Thatsache müssen wir zunächst unser Hauptaugenmerk richten und es drängt sich die Frage auf, ob in der Abnahme der Phosphate und Carbonate etwas ungeordnetes, regelloses liegt oder ob darin nicht eine gewisse Gesetzmässigkeit zu Tage tritt. Eine Beantwortung dieser Frage ist nur möglich, an der Hand von einigen Kenntnissen über das Verhältniss von Phosphat und Carbonat im normalen Knochen.

Nach den Untersuchungen von Hoppe-Seyler[1]) tritt in dem Zahnschmelz und in den Knochen, ähnlich dem natürlichen Vorkommen der Phosphate in den Gesteinen, Phosphorsäure und das Ca immer annähernd im Verhältniss $6\,PO_4 : 10\,Ca$ zusammen. Das von der Phosphorsäure nicht vollständig gesättigte Ca ist in der Hauptsache an CO_2 gebunden, nur geringe Mengen an Cl und Fl. Dieses Verhältniss, das seinen natürlichen Ausdruck in der Formel $3\,[(PO_4)_2Ca_3]\,CaCO_3$ — von Cl und Fl wird dabei abgesehen — findet, ist ein festes, sehr constant und tritt gleich als solches bei der Ablagerung der betreffenden Teile auf, ohne Rücksicht auf die organische Grundsubstanz, wie derselbe Autor ebenfalls an dem Schmelz von in der Entwicklung begriffenen Zähnen nachgewiesen hat. Zu den in Hoppe-Seyler's Abhandlung mitgeteilten Werten füge ich aus der grossen Zahl von Knochenanalysen nur einige weitere Beispiele an: sie alle beweisen deutlich dieses constante Verhältniss.

---

[1]) Archiv. f. path. Anat., Bd. XXIV, S. 13. 1862; Lehrbuch der physiol. Chem., Berlin 1877, S. 104.

Tabelle III.

Autor.	PO_4.	Ca.	10 Ca : 6 PO_4 (400 : 570).	Bemerkungen.	
v. Bibra.	33,283	21,924	400 : 607,2	Femur	Foetus von 6—7 M.
	33,21	21.94	» 605,5	Tibia	
	33,991	21,8	» 623,6	Humerus	
	36,1177	24,654	» 586,1	Ulna	Weibl. Frühgeburt 7 M.
	36,0579	24,686	» 584,5	Radius	
	23,5722	16,766	» 562,5	Scapula	
	35,6759	24,35	» 585,9	Clavicula	
	36,02	24,68	» 583,8	Tibia	Knabe von 2 M.
	35,26	24,24	» 581,8	Atlas	
	30,19	21,07	» 573,1	Femur	Knabe von 3/4 J.
	31,46	21,86	» 575,7	Humerus	
	30,38	21,106	» 577,8	Tibia	
	28,48	19,626	» 580,5	Radius	
	30,19	21,08	» 572,9	Ulna	
	26,58	18,38	» 578,4	Costa	
	26,79	18,52	» 578,6	Scapula	5 J.
	37,65	25,57	» 588,9	Femur	
	37,58	25,53	» 588,7	Tibia	
	34,55	25,56	» 540,7	Femur	19 J.
	34,52	25,56	» 540,2	Humerus	
	36,423	25,798	» 564,7	Femur	Weib 25 J.
	36,283	25,702	» 564,7	Tibia	
	36,352	25,788	» 563,9	Fibula	
	36,723	26,076	» 563,3	Humerus	
	36,49	25,858	» 564,5	Ulna	
	36,417	25,79	» 564,8	Radius	
	36,556	25,928	» 564,0	Metacarpus	
	35,766	25,362	» 564,1	Clavicula	
	36,556	25,83	» 566,1	Os occipit.	
	33,445	23,944	» 558,7	Costa	
	26,935	19,376	» 556,1	Sternum	
	34,669	24,652	» 562,5	Scapula	
	28,184	20,34	» 554,3	Vertebrae	
	31,609	22,482	» 562,4	Os innominat	
Lehmann, C. G.	35,48	25,59	» 554,6	Humerus	Mann 40 J.
	33,41	24,51	» 545,2	Radius	
	33,856	24,7	» 548,3	Ulna	
	36,91	26,52	» 556,7	Femur	
	33,25	24,24	» 548,7	Fibula	
	33,33	24,3	» 548,6	Tibia	

Autor.	PO_4.	Ca	10 Ca : 6 PO_4 (400 : 570).	Bemerkungen.
Lehmann, C. G.	32,94	24,41	400 : 539,8	Femur } Mann 44 J.
	33,1	24,44	» 541,8	Tibia } Mann 44 J.
	32,54	24,19	» 538,1	Fibula } Mann 44 J.
Frerichs[1]).	30,79	24,13	» 510,4	Spongiosa.
	31,49	24,25	» 519,4	Spongiosa.
	35,98	26,75	» 538,0	Compacta.
	36,47	26,71	» 546,2	Compacta.
v. Bibra.	37,49	26,02	» 576,3	Femur } Mann 25—30 J.
	37,06	25,66	» 577,7	Tibia } Mann 25—30 J.
	37,48	26,28	» 570,5	Humerus } Mann 25—30 J.
	35,95	25,202	» 570,6	Femur.
Fourcroy u. Vauquelin[2]).	24,02	18,71	» 513,5	Ochs.
Berzelius, cit. nach v. Bibra.	36,637	23,74	» 617,3	
Lassaigne.	24,52	18,52	» 529,6	Radius.
Denis, cit. nach v. Bibra.	32,48	25,0	» 519,7	
Thilenius[3]).	37,71	26,84	» 562,0	
Wild.	54,91	37,99	» 578,1	Gleich nach der Geburt.
	51,72	38,83	» 532,8	Beim 3—4 J. alten Tiere.
Heintz.	52,98	38,52	» 550,2	Ochs
	53,29	38,52	» 553,4	Hammel.
	53,75	38,59	» 557,1	I. } Mensch.
	53,87	38,56	» 558,8	II. } Mensch.
v. Recklinghausen.	56,2	38,41	» 585,3	Schädel 3 Tage alt.
	56,96	36,413	» 625,4	» 14 » »
	54,81	37,66	» 582,1	Femur.
	54,86	37,98	» 577,8	6 J. Cortical.
	56,73	37,97	» 597,6	6 J. Epiphyse.
Carnot.	54,74	37,968	» 576,7	Femur vom Mensch.
	55,124	37,707	» 584,7	Femurkopf.
	53,645	37,92	» 565,9	Femur vom Ochs.

[1]) Ann. d. Chem. u. Pharm., Bd. XXXXIII, S. 251.

[2]) Ann. de Chimie et de Physique, Bd. 57.

[3]) Dissert. inaug. sistens disquisitionem chemicam ossium human. Göttingae 1823.

Autor.	PO_4	Ca.	10 Ca : 6 PO_4 (400 : 570).	Bemerkungen.
Gabriel.	55,528	38,32	400 : 579,6	Rinderzähne.
	55,715	—	—	
	55,661	38,342	» 580,7	
	—	38,365	—	
	55,487	38,32	» 579,2	
	55,594	38,336	» 580,1	Mittelwert.
	51,89	36,18	» 573,7	Rinderzähne (Glycerinasche).
	52,02	36,257	» 573,9	
	53,12	37,13	» 572,3	Zahnschmelz } Rind.
	51,65	35,97	» 574,4	Zahnbein } Rind.
	49,04	36,65	» 535,2	Humerus vom Mensch.
	50.12	36,63	» 547,2	Femur vom Rind.
	51,1	36,436	» 561,0	Gans. sämmtl. Knochen.

Freilich lässt sich in den Zahlen mancher Autoren[1]) ein gewisser Unterschied insofern nicht verkennen, als gerade stark im Wachstum begriffene Knochen sich durch einen etwas zu hohen Phosphorsäuregehalt auszeichnen. Dies darf uns jedoch nicht Wunder nehmen; denn gerade die Zellen von grosser Lebensenergie, Zellen von stark in der Entwicklung begriffenen Teilen, wie z. B. die des Eidotters, von Pflanzensamen, Sperma, Hefe, rasch wachsenden Papillomgeschwülsten, etc., enthalten, wie Hoppe-Seyler[2]) ebenfalls nachgewiesen hat, in reichlicher Quantität Lecithin und Nucleïn, zwei an Phosphorsäure reiche Stoffe, so dass der höhere Befund der letzteren in solchen Knochen zum Teil dem organischen Material zu gute kommt und nicht ausschliesslich dem $(PO_4)_2Ca_3$. Bei Besprechung der Spongiosa vom Schenkelhals kommen wir noch einmal hierauf zurück. (S. 265.)

Fragen wir nun, wie es in Anbetracht der eben geschilderten Verhältnisse von Phosphorsäure und Ca bei der Osteomalacie steht, so lehrt ein Blick auf die folgende Tabelle, dass dieses Verhältniss intact geblieben ist.

---

[1]) v. Bibra und v. Recklinghausen.

[2]) Med. chem. Untersuchungen, S. 140, 215, 221, 386, 391, 405, 441, 461, 463, 486, 502, 521.

Tabelle IV.

	PO_4.	Ca.	10 Ca : 6 PO_4 (400 : 570).	Bemerkungen.
	33,3734	24,913	400 : 535,9	A. Compacta.
	33,50095	25,02	» 567,6	
	33,99066	25,15	» 540,6	
	34,082	25,015	» 545,1	
	34,0082	24,935	» 545,6	
	35,2969	25,041	» 563,9	
	34,71536	24,87	» 558,3	
	33,9294	24,776	» 547,8	
	33,14437	25,133	» 527,5	
	—	25,035	—	
	35,52727	25,009	» 568,3	
	34,1461	—	—	
	—	24,89	—	
	34,0354	24,975	» 545,1	
	33,6297	24,563	» 547,7	
	33,9247	24,99	» 542,9	
	34,51123	25,43	» 542,8	
	36,0787	25,109	» 574.7	
	35,3246	25,707	» 549,6	
Mittelwerte:	34,3012844	25,031	400 : 548,1	
	28,2816	20,112	400 : 562,5	B. Spongiosa.
	28,482	—	—	
	27,4117	20,538	» 533,8	
	28,1911	20,579	» 547,9	
	27,032	20,49	» 527,7	
	27,2535	19,62	» 555,6	
	27,4417	19,946	» 550,2	
	27,7431	20,92	» 530,4	
Mittelwerte:	27,7296	20,302	400 : 546,4	
	26,9273	19,551	400 : 551,0	C. Spongiosa vom Schenkelhals.
	28,44652	20,306	» 560,3	
	28,21083	19,326	» 583,8	
	29,51	20,506	» 575,5	
	26,97542	19.757	» 545.7	
Mittelwerte:	28,014015	19,8892	400 : 563,3	

Sowohl in der Compacta, wo der Process im Fortschreiten begriffen ist, als auch in der reinen Spongiosa, wo er bereits einen gewissen Höhepunkt erreicht hat — beträgt doch die Abnahme der mineralischen Bestandteile auf die Asche berechnet ca. 18% (gegenüber denen von Zalesky) in unserem Fall — ist jenes Verhältniss bewahrt. Sicherlich können wir darin nichts Zufälliges erblicken, denn auf diesen Punkt hin gerichtete Untersuchungen der in der oben angegebenen Litteratur verzeichneten Analysen führten — soweit die Berechnung möglich war — zu demselben Resultat.

Tabelle V.

Autor.	PO_4.	Ca.	10 Ca : 6 PO_4 (400 : 570).	Bemerkungen.
Lehmann, C. G.	10.928	8,014	400 : 545,6	Femur Osteomal.
	13,2021	9,341	» 565,3	Rippe 40 J.
	11,94	8,821	» 541,4	Femur Osteomal.
	12,1661	9,041	» 538,4	Rippe 40 J.
v. Bibra	35,1726	23,271	» 604,5	Femur 75 J. Frau.
	29,5472	20,661	» 572,1	Femur 80 J. Frau.
	33,5217	23,609	» 567,9	Femur 60 J. Frau.
Bödeker, cit. nach Kilian: das halisteret. Becken, Bonn 1857, S. 70 . . .	30,57	21,6	» 566,1	
Bostock	8,9296	5,717	» 624,7	Rückenwirbel.
Mörs u. Muck .	19,35	14,907	» 519,2	
	19,23	12,9	» 596,3	
Prösch	8,121	7,509	» 432,6	(!) Rückenwirbel.
	20,59	14,85	» 554,6	Rippe. P. findet ausserdem noch $(SO_4)Ca$ und Na_3PO_4.
O. Weber . . .	25,59	17,11	» 598,2	I. Virchow's Archiv, Bd. 38, S. 1.
	14,2348	11,77	» 483,6	II. Virchow's Archiv, Bd. 38, S. 1.
	24,21	15,78	» 613,7	Inaug.-Diss.
	30,57	21,6	» 566,1	Habilitationsschrift, cit. nach Mörs u. Muck, Deutsch. Arch. f. klin. Medicin, 1869.
Huppert	13,278	8,148	» 651,7	Ohne Berücksichtig. des phosphors. Eisenoxyds.
Mommsen und Langendorf.	46,51	31,77	» 585,6	

Die übrigen Analysen von Ragsky, C. G. Lehmann und Bogner konnten nicht berücksichtigt werden; die beiden ersten, weil sie zu wenig detaillirt sind und die letztere, weil darin viel zu viel $(PO_4)_2Mg_3$ (über 5%) und zu wenig CO_2 etwa 1% vorhanden sind, Verhältnisse, wie sie normaler Weise nicht vorkommen.

Ein weiteres Belege für die Wichtigkeit dieser Verhältnisse liefert die Betrachtung von sonstigen pathologischen Zuständen des Knochensystems, bei denen sowohl Knochenneubau als -abbau stattfindet. Ich bin in der Lage, aus den spärlich vorhandenen Mitteilungen über diesen Gegenstand einige Zahlen anführen zu können, die dasselbe vollkommen zu beweisen im Stande sind und zugleich noch, wenigstens, was die Knochenneubildungen anbetrifft, die Angaben von Hoppe-Seyler über die in der Entwicklung begriffenen Schmelzprismen ergänzen mögen.

Tabelle VI.

Autor.	PO_4.	Ca.	10 Ca : 6 PO_4 (400 : 570).	Diagnose.	Bemerkungen
v. Bibra	31,2089	23,166	400 : 563,3	Caries.	Mittelhandknochen.
	19,8219	13,768	» 575,9	»	Gelenkkopf.
	30,9637	22,339	» 554,3	»	Phalanx.
	27,74	18,43	» 602,0	»	Wirbel.
	27,403	17,924	» 611,6	»	Tarsus.
	29,101	19,228	» 605,3	»	Nasale.
	30,233	21,076	» 573,9	»	Tibia.
Valentin, cit. nach v. Bibra.	24,52	17,101	» 573,6	»	Tibia.
	21,93	15,97	» 549,3	»	Femur.
v. Bibra	29,4	19,492	» 603,1	Syphilis.	Gaumen.
	36,4346	26,124	» 557,9		Humerus.
	35,6046	25,306	» 562,6	Knochenbrüchigkeit (Kuh).	Ulna.
	30,2626	21,826	» 554,5		Costae.
	35,16	24,598	» 571,7		Ulna u. Rad
	28,02	27,438	» 554,2	Atrophie.	Humerus.
	37,984	27,558	» 551,2		Femur.
	30,534	18,98	» 643,4	Exostose.	
	27,77	19,276	» 576,1	Callus.	
	30,202	21,488	» 562,1	Rachitis.	Ulna.
Marchand, Jour. f. prakt. Ch., XXVII.	9,6391	6,921	» 557,1	»	
Lehmann, C. G.. .	17,0974	11,582	» 590,7	»	
Schlossberger, Arch. f. phys. Heilkunde, Bd. VIII.	27,91	19,358	» 576,6	Craniotabes.	
	26,38	19,23	» 548,7		
	28,31	20,17	5 561,4		
v. Gorup-Besanez, cit. nach P. Pouley, Thèse de Paris 1874.	19,77	14,89	» 531,1	Knochenbrüchigkeit beim Rind.	

Es liegt auf der Hand, dass wir, gestützt auf diese Thatsache, wichtige Schlüsse zu machen berechtigt sind.

Von dem Gedanken geleitet, dass ein künstlich durch Säure seiner Salze beraubter Knochen sich ähnlich verhalten möge wie der osteomalacische, der ja, seiner chemischen Natur nach zu urteilen, nur seine Mineralstoffe verloren hatte, war man früher und jetzt noch bestrebt, jenes Factum durch eine intra vitam entweder am Orte der Einwirkung gebildete oder dorthin verbrachte Säure zu erklären. In der That fehlte es nicht an Befunden von Milchsäure — denn um diese konnte es sich nur handeln — resp. von milchsaurem Kalk in Knochen, Knochenmark und Harn von Osteomalacischen, Befunde, die alle mehr oder weniger mit der in Rede stehenden Krankheit in directe Beziehung gebracht wurden. C. Schmidt[1]) entdeckte sie zuerst im Knochenmark, von den späteren positiven Befunden sind zu nennen: O. Weber[2]), Drivon[3]), Steiner[4]) im Knochen, Mörs und Muck[5]) im Knochen und Harn, Winkel[6]), Mommsen und Langendorf[7]), Kier im Harn[8]). Eine wesentliche Stütze erhielt die Milchsäuretheorie durch das Experiment. Heitzmann[9]) war angeblich im Stande, durch fortgesetzte Milchsäurefütterung neben kalkarmem Futter bei Fleischfressern zuerst Rachitis, dann Osteomalacie, bei Pflanzenfressern sofort Osteomalacie zu erzeugen. Aehnliche Versuche von Sydamkrotzky und Hoffmeister[10]) führten zwar nicht zu einem so eclatanten Resultat, wie die von Heitzmann, jedoch könne, so meinen die Verfasser, Osteomalacie bei

---

[1]) L. c.

[2]) L. c., cf. auch Kilian, Das halisteretische Becken, Bonn 1857 (Bödeker).

[3]) L. c.

[4]) L. c.

[5]) L. c.

[6]) Centralbl. f. Gyn. 1889, Nr. 48.

[7]) L. c.

[8]) Hosp. Tid. 3, R. I, ref. in Virchow-Hirsch 1883, II, 606.

[9]) Wien. med. Anzeiger 1873, 113; Wien. med. Jahrb. 1874; Wien. med. Presse 1873, 45.

[10]) Archiv f. Tierheilkunde 1879, S. 243; Jahresb. der Ges. f. Natur- und Heilkunde, Dresden 1878.

Pflanzenfressern entstehen, wenn dem Tiere Milchsäure neben gährungsfähigem, reichlich milchsäurebildendem Futter verabreicht würde. Es kann nicht unsere Aufgabe sein, auf das Vorkommen von Milchsäure im Organismus und seine Bedeutung für denselben einzugehen; wir brauchen es im vorliegenden Falle überhaupt auch nicht. Eine einfache Ueberlegung bringt uns schon auf den Gedanken, dass wenn eine freie Säure im Knochen vorhanden wäre, vor allem saure Salze entstehen müssten. Wie steht es aber in dieser Hinsicht mit unseren Analysen und mit den vorhandenen? Sie zeigen alle auf das Evidenteste, dass die Bildung eines sauren Salzes ganz unmöglich ist, denn es ist ein Ueberschuss an Base (Ca) vorhanden[1]).

Wir gehen noch einen Schritt weiter. Wäre eine freie Säure im Knochen vorhanden, die das Ca aus seinen Verbindungen einfach chemisch lösen würde, müsste da nicht zuerst die locker gebundene CO_2 als die schwächste von den

---

[1]) Wir wollen bei dieser Gelegenheit kurz auf die ganz neuerdings v. Gabriel (l. c.) gemachten, sehr sorgfältigen Untersuchungen eingehen, in denen der Verfasser den Nachweis liefert, dass ein Ueberschuss von basischen Aequivalenten in den mineralischen Bestandtheilen der Knochen und Zähne vorhanden ist, der seine Erklärung in dem Vorhandensein einer lockeren Verbindung von neutralem und basischem Calciumphosphat findet. Denn das erst durch Glühen der Substanzen mit SiO_2 bei 300° ausgetriebene Wasser entspricht nach dem Verfasser jenem basischen Ueberschuss und weiter gelangt G. zur obigen Annahme durch das verschiedene Verhalten von normalem und basischem Ca-Phosphat gegenüber einer neutralen Lösung von Ammoniumcitrat. — Zunächst möge der Einwand erhoben werden, dass der basische Ueberschuss, wie ihn G. statuirt, einmal reducirt werden muss, weil die von ihm angenommenen Alkalien Na und Ka wohl sicherlich von der die Haverschen Kanäle umspülenden Lymphe resp. von dem noch zurückgebliebenen Blut herstammen dürfte. — Ebenso dürfte seine CO_2-Angabe etwas zu niedrig ausgefallen sein, denn die von ihm angewandte Bestimmungsmethode verbürgt nicht die volle Ausbeute derselben aus den Eingangs erörterten Gründen. Ueber den zu geringen Fl- und Cl-Gehalt haben wir uns schon geäussert. Indess sind alle diese Zahlen doch noch viel zu gering, um den Unterschied von sauren und basischen Aequivalenten auszugleichen, wenn sie ihn freilich schon etwas herunterdrängen, und die von G. gefundene Thatsache, dass die bei 300° mit SiO_2 erhitzten Substanzen etwa 1 % H_2O verlieren, bleibt vollständig noch zu Recht bestehen, lässt aber eine andere Deutung

beiden vorhandenen ausgetrieben werden? Lehmann[1]) spricht sich bereits in ähnlichem Sinne aus. Unsere Analysen aber haben gezeigt, dass nicht die eine Säure vor der andern, sondern beide in derselben Proportion abnehmen. Hierüber konnte nur das Experiment entscheiden. Zu dem Behufe legte ich vollständig gereinigte, frische Ochsenknochen in möglichst verteiltem Zustand in eine schwache Milchsäurelösung (1 %) — und zwar in dem Verhältniss, dass etwa die Milchsäure der ganzen vorhandenen CO_2-Menge entsprach — schüttelte öfters um und liess von Zeit zu Zeit einen CO_2 freien Luftstrom durch. Nach einigen Tagen goss ich die Flüssigkeit ab und fand in ihr die PO_4 und Ca in folgenden Mengen gelöst:

Tabelle VII.

100 cbcm. der Milchsäure-Lösung enthielten:

	Ca	PO_4
I.	0,1767	0,2351
II.	0,1714	8,2234
Im Mittel . .	0,17405	0,22925

Gemäss dieser Zusammensetzung ist nach der ersten Analyse in der Lösung nach dem Verhältniss $6\ PO_4 : 10\ Ca = 570 : 400$ (wobei Ca die unbekannte Grösse ist):

$6\ PO_4 : 10\ Ca.$ $6\ PO_4 : 10\ Ca.$
0,2351 : 0,16498 und in der zweiten Analyse 0,2234 : 0,15677.

Nach der ersten Analyse wird also 0,1767 — 0,16498 = 0,01172 gr. und nach der zweiten 0,1714 — 0,15677

zu, als die vom Verfasser gegebene. Wie oben erwähnt, treten Phosphosäure mit Ca im Verhältniss von $6\ PO_4 : 10\ Ca$ zusammen, der von der Phosphorsäure unvollständig gesättigte Ca wird von CO_3, Fl und Cl eingenommen, nach den Untersuchungen von G. wäre dann noch $Ca(OH)_2$ vorhanden — denn von diesem allein rührt der basische Ueberschuss her —, das aber durchaus nicht in irgend eine nähere Beziehung mit dem neutralen Phosphat oder der Phosphorsäure zu treten braucht, sondern, frei, ganz unabhängig davon sein kann, vielleicht an die Kette $3(PO_4)_2Ca_3)CaOCO_2$ gebunden ist — darüber müssen weitere Untersuchungen Aufschluss geben — und das durch Glühen mit SiO_2 in CaO übergeht.

[1]) C. G. Lehmann, Lehrb. d. physiol. Chemie, Leipzig 1859 III, S. 26.

= 0,01463 gr. Ca gelöst sein, dessen entsprechende Phosphorsäure aus den Knochen nicht aufgelöst ist. Die aufgelöste Phosphorsäure wird sich in der Lösung als $Ca(PO_4H_2)_2$ befinden und es kann die Diffusion aus den Knochenstückchen in die freie Lösung für das Lactat des Ca schneller erfolgen als die des Ca-Monophosphats. Dies war aber auch dann anzunehmen, wenn im lebenden Organismus eine verdünnte Milchsäure zur Wirkung gelangte. Der obige Befund in den osteomalacischen Knochen entspricht dem durchaus nicht.

Es ergibt sich noch des Weiteren aus der Betrachtung dieses Verhältnisses 6 PO_4 : 10 Ca, ein Verhältniss, in dem bereits das in der Formel 3 $[(PO_4)_2Ca_3]CaCO_3$ vorkommende, an CO_2 gebundene Ca enthalten ist, dass 0,01172 Ca bezw. 0,01463 Ca mehr gelöst worden ist als demselben entspricht, was in Anbetracht der geringen im vorliegenden Falle gelösten Substanzen sehr in die Waagschale fällt. Woher stammen diese Differenzen? Ganz offenbar vom Calciumcarbonat, von dem relativ mehr gelöst worden ist als vom Phosphat. Denn es lässt sich wohl nicht annehmen, dass aus der normaler Weise so überaus geringen Menge Fl_2Ca und Cl_2Ca so viel Ca hier in Lösung gegangen ist.

Offenbar hat man sich bei der Aufstellung der Säuretheorie nicht daran gestossen, wie von competenter Seite mit Recht eingeworfen worden ist[1]), dass dann saure Reaction des Blutes oder des Knochens oder Fällung im Blute eintreten müsste, was aber nach der heutigen Anschauung mit dem Leben nicht verträglich ist. Uebrigens fehlt bisweilen noch der Nachweis von Milchsäure im Blute von osteomalacischen Personen.

Und was den Nachweis der Milchsäure selbst anlangt, so ist derselbe kein so sehr leichter und nur einigermassen geübten Chemikern möglich. Es ist daher kein Wunder, wenn die älteren Befunde von Milchsäure in den Organen des menschlischen Körpers heutzutage mit einem gewissen berechtigten Misstrauen aufgenommen werden. Gerade aus diesem Grunde sind auch die Milchsäurenachweise von Mörs und Muck und

---

[1]) Cf. Hoppe-Seyler, Lehrb. d. physiol. Chemie, Berlin 1877, S. 107.

von Langendorf und Mommsen, da sie lediglich auf mikroskopischem Wege gemacht worden sind, in der Neuzeit angefochten worden (Nencki und Sieber[1]), Heuss[2]). Nencki und Sieber wollen es wahrscheinlich machen, dass die Mommsen'schen Milchsäurekrystalle aus Harnstoff bestanden. Auch die übrigen Milchsäurenachweise stehen auf sehr schwachem Fuss. O. Weber wies sie in den Knochen einer Leiche nach, die schon 6 Tage auf dem Secirsaale gelegen und zur Muskelpräparation gedient hatte (!). Schmidt's Nachweis ist ebenfalls kein stricter. Drivon's und Steiner's Analysen waren mir leider nicht im Original zugänglich, so dass ich über ihr Verfahren nicht urtheilen kann. Kier lässt es selbst dahingestellt, ob es sich wirklich um Milchsäure gehandelt habe bei den Krystallen, die er aus dem Harn erhielt. Wir haben in unserem Fall nicht auf Milchsäure untersucht, einmal schon einfach aus dem Grund nicht, weil die Reaction des frischen Knochens keine saure war und weil das Vorhandensein von so grossen Mengen von CO_3Ca die Unmöglichkeit einer stattgehabten Milchsäureeinwirkung klar legte.

Viel zahlreicher als die angeblichen Befunde von Milchsäure sind die negativen Befunde im Knochen und Harn: Virchow[3]), Mommsen und Langendorf[4]) im Knochen, Schmutziger[5]), Mörs und Muck[6]) (in einem Fall), Schramm[7]), Wulf[8]), Hoexter[9]), Heuss[10]), Fehling[11]), Bouley u. Hanot[12]) im Harn. Sie gewinnen an Bedeutung

---

[1]) Journal f. prakt. Chemie, Bd, XXVI, 1882.

[2]) Arch. f. exp. Pathol., Bd. XXVI, 1889.

[3]) L. c.

[4]) L. c.

[5]) Centralbl. f. d. med. Wissensch., Bd. XII, 1875, S. 946.

[6]) L. c.

[7]) Ein Fall von Osteomalacie. Przsglad lekarsky No. 8, ref. in Virchow-Hirsch 1881.

[8]) St. Petersburger med. Wochenschrift 1882, No. 42, 43.

[9]) Beiträge zur quantitativen Harnanalyse bei Osteomalacie, Inaug.-Diss., Würzburg 1888.

[10]) L. c.

[11]) Wien. med. Corr.-Blatt 1877, No. 17.

[12]) Arch. de phys. norm. et patholog., II. Série 1874, I.

durch die im Gegensatz zu den erwähnten Experimenten von Heitzmann und Sydamkrotzky und Hoffmeister vollständig negativen Resultaten von Heuss[1]), der einen Hund während 308 Tagen mit 2286 gr. Milchsäure fütterte und keine Spur von Osteomalacie nach der Section des Tieres fand, und durch die in demselben Sinne ausgefallenen Ergebnisse von Toussaint und Tripier[2]), die Hunden, Katzen und Kaninchen 2—4—8 gr. beibrachten. Die Gelegenheit zur Milchsäurebildung im Organismus und Ausscheidung als solcher ist sicherlich nur dann gegeben, wenn die Oxydation gehemmt ist, wie z. B. bei O-Mangel, wodurch ihrer weiteren Oxydation zu CO_2 und H_2O ein Ziel gesteckt ist[3]). Es frägt sich daher, warum sie, künstlich zu therapeutischen Zwecken dem Organismus in grossen Dosen beigebracht, bei allen diesen Individuen nicht Osteomalacie erzeugt. Nach der Meinung der Anhänger der Säuretheorie müsste dieser Zustand unbedingt eintreten; thatsächlich wird sie aber im Organismus zu CO_2 und H_2O oxydirt.

Das Urteil über die locale Wirkung der Milchsäure auf den Knochen ist, nach den vorliegenden Mittheilungen zu urtheilen, noch kein endgültiges, kann indessen unsere Auffassung über unseren Gegenstand kaum beeinflussen. Nach der Behauptung von Vogt[4]), der Milchsäure in Kaninchentibien injicirte, trat nach fünf Wochen keine Lösung des Knochens, sondern Hyperplasie des Gewebes ein; v. Mosetig-Moorhof[5]) will bei ihrer Application auf fungöse Massen keine lösende Wirkung auf den umgebenden Knochen gesehen haben. Telke[6]) beobachtete, ebenso wie Vogt, Dickenzunahme des Knochens eines Kaninchens nach fünf Wochen, dem er

---

[1]) Zeitschrift f. Biol., Bd. XII, 1876.

[2]) Sur les effets de l'acide lactique au point de vue du rachitisme et de l'ostéomalacie.

[3]) Tr. Araki, Zeitschr. f. phys. Chemie, Bd. XV; F. Hoppe-Seyler in Festschrift der Assistenten Virchow's.

[4]) Berlin. klin. Wochenschrift 1875, 34.

[5]) Centralbl. f. Chirurg. 1885.

[6]) Experim. Beitrag zur Lehre vom Knochenwachsthum, I.-D., Greifswald 1874.

dieselbe in die Diaphyse einspritzte. Wegner[1]) sah Auflösung des Knochens neben starker Granulationsbildung bei Kaninchen und einem Hund, dem er reine und verdünnte Milchsäure injicirte.

Unsere Discussion über die Erhaltung des Verhältnisses $6\,PO_4 : 10\,Ca$ hat uns zunächst zu dem Resultate gebracht, dass wir es in keinem Falle mit der Wirkung einer freien Säure zu thun haben. Vielleicht liesse sich eher der Gedanke verfechten, dass die erhaltene Correlation $6\,PO_4 : 10\,Ca$ Knochenneubau bedeutet und dass die dabei vorhandene Verminderung der unorganischen Bestandteile als Knochenneubau aufzufassen wäre, der quantitativ hinter dem Maass des physiologischer Weise gebildeten zurückgeblieben wäre. Von diesem Standpunkte aus beleuchtet würden dann unsere Analysen eine vortreffliche chemische Ergänzung der Meinung von Cohnheim[2]) bilden, der den ganzen Process als einen activen auffasst, als eine unvollständige Neubildung von Knochengewebe und somit auf eine Stufe mit der Rachitis stellt. Cohnheim's Auffassung nämlich, der sich spätere Forscher, Pommer[3]), Kassowitz[4]), Birch-Hirschfeld[5]) mit gewissen Modificationen angeschlossen haben, verdankt ihre Entstehung der Erklärung jener bei der Osteomalacie um den Haver'schen Canal liegenden, durch Carmin lebhaft roth gefärbten Zone, die von ihm als neugebildet angesehen wird. Denn, so sagt Cohnheim, wo Knochengewebe schwindet, werden nicht zuerst die Salze resorbirt und hinterher die organische Grundsubstanz. Wo Knochengewebe schwindet, entsteht sogleich die Howship'sche Lacune, die von den Osteoklasten erfüllt wird, nie entsteht osteoides, kalkfreies Gewebe; hier aber, in dieser osteoiden Zone, vermissen wir sie, es kann daher die um den Haver'schen Canal liegende Zone nur neugebildete

---

[1]) Experim. Beitrag zur Wirkung der Milchsäureinjection, I-D., Greifswald 1874.

[2]) Vorlesungen über allg. Pathologie, Berlin 1877, I, S. 509ff.

[3]) Ueber Rachitis und Osteomalacie, Leipzig 1885.

[4]) Die normale Ossification, Wien 1881—85.

[5]) Lehrbuch der pathol. Anatomie 1887, II, S. 13.

organische Grundsubstanz sein, die nicht in der normalen Weise verknöchert ist, weil die nötigen Kalksalze anderweitig in Beschlag genommen sind. (Bei Schwangeren werden sie dem Fötus zugeführt, bei Männern, falls die Krankheit sicher bei diesen constatirt ist, dürften Störungen in der normalen Resorption der Kalksalze mitspielen.) Wenn sich auch vom rein chemischen Standpunkt aus nichts gegen diese Theorie einwenden lässt, so steht sie doch einmal im Widerspruch mit den Forschungen der Physiologen über Einfluss von Phosphor und Kalk auf die Zusammensetzung der Knochen (v. Voit[1]), Weiske[2]). Den hauptsächlichsten Stoss aber hat sie erlitten durch die Ergebnisse der pathologisch-anatomischen Untersuchung von v. Recklinghausen. Obwohl es eigentlich den Rahmen unserer Aufgabe überschreitet, auf diese Seite der Osteomalacie einzugehen, muss ich doch im Interesse einiger späteren Bemerkungen mit ein Paar Worten diese Frage streifen. Wenn Cohnheim die Osteoklasten und die Howship'schen Lacunen, die charakteristischen Merkmale der Knochenresorption in den osteoiden Zonen vermisst, so gilt das eben nur für eine Art von Knochenabbau, bei der organisches und unorganisches Material gleichzeitig entfernt werden. Bei der Osteomalacie aber haben wir, wie v. Recklinghausen mit Hilfe neuer Untersuchungsmethoden gezeigt hat, es zu thun mit einer besonderen Art von Knochenschwund, bei der die Entfernung der Salze der Resorption des organischen Materials vorausgeht. Da, wo die von v. Recklinghausen beschriebenen Gitterfiguren auftreten., ist der Knochen im Begriff aus dem kalkhaltigen in das kalklose Stadium überzutreten. Finden sie sich doch immer an der Grenze von osteoider zu normaler, kalkhaltiger Knochensubstanz. Sie sind aber höchst vergänglicher Natur; denn die Fibrillen der Knochengrundsubstanz, deren Spalten zwischen den einzelnen eben durch jene Gitter zum Ausdruck kommt, backen später zusammen und dann erscheint das Gewebe homogen-osteoid-. Wo die Gitter vorkommen, charak-

---

[1]) Zeitschrift f. Biologie, Bd. XVI, 1880.

[2]) Ibid., Bd. II, III, IV, 1871, 1873, 1874.

terisiren sie eben nur eine besondere, bis vor Kurzem noch unbekannte Art des Knochenabbaus; sind sie doch auch künstlich, wie Apolant[1]) gezeigt, hervorgebracht worden nachdem er Schliffe von normalem Knochen ganz kurze Zeit in Säure gelegt, also die Salze entfernt hatte.

Im Uebrigen kommt bei der Osteomalacie, wie ebenfalls v. Recklinghausen zuerst gezeigt hat, auch Knochenneubau vor, aber nur an bestimmten, an gewisse physiologische Bedingungen gebundenen Stellen, an den «Zug- und Drucktrajectorien»: im Hals des Femur, den Ansätzen der Bänder und Sehnen und in den Wirbelkörpern; aber hier gelang v. Recklinghausen der Nachweis von Sharpey'schen Fasern an Stellen, wo sie physiologischer Weise fehlen.

Es wäre vielleicht nicht zu gewagt, im Anschluss an die eben gemachte Angabe von Knochenneubau zu behaupten, dass in manchen Zahlen von der Spongiosa vom Schenkelhals in gewissem Sinne eine chemische Bestätigung der v. Recklinghausen'schen Angabe liege, insofern nämlich als einmal die Werte hier stärker differiren als in den übrigen Knochenpartien, zweitens manche Zahlen eine grössere Zunahme von CO_3Ca aufweisen als in der übrigen Spongiosa, drittens ein Ueberschuss von Phosphorsäure hie und da zu Tage tritt. Ich möchte diese letztere Bemerkung über PO_4 in dem Sinne der oben (S. 253) gemachten Angabe auslegen, in dem Sinne nämlich, dass ich das Plus auf Rechnung der bei der Knochenproduction so lebhaft beteiligten Knochenzellen stelle.

In der von uns gefundenen Thatsache, dass bei der Osteomalacie keine Alteration des normalen Verhältnisses $6\ PO_4 : 10\ Ca$ stattgefunden hat und dass die CO_2 in so grosser Menge noch vorhanden ist, müssen wir den vollgültigen Beweis erbracht sehen, dass wir es mit einer Entkalkung im eigentlichen Sinne des Wortes, einer Halisteresis, zu thun haben. Ebenso wie beim Knochenneubau 6 Phosphorsäureatome zusammentreten, um mit 10 Ca-Atomen, von denen die nach Sättigung der Phosphorsäure übrig gebliebenen an CO_2, Cl, Fl und als $Ca(OH)_2$ gebunden werden, ein festes Gefüge zu

[1]) Virchow's Archiv 1893, Bd. 133, S. 41.

bilden, ebenso wird auch beim Knochenabbau dieses Phosphatcarbonat als ganzes entfernt, nicht einzelne Theile desselben vor den anderen, wie die Säuren vor den Basen oder umgekehrt. Auch den Beweis haben wir nicht erbringen können, dass aus dem 3 basischen Phosphat, bevor es dem Untergang anheimfällt, saure Salze gebildet werden. Die Analysen von der reinen Spongiosa und der Spongiosa vom Schenkelhals beweisen auf das Evidenteste, dass, wenn der Zerstörungsprocess auch noch so weit fortgeschritten ist, das Phosphatcarbonatmolecül als solches den Angriffspunkt bildet für die zerstörende Macht, nicht dessen einzelne Bestandteile. In diesem Sinn vollzieht sich der Knochenabbau nicht allein bei der Osteomalacie, sondern, so weit die vorhandenen Analysen über die anderweitigen Resorptionsprocesse von fertigem Knochengewebe, insbesondere die der Caries, einen Schluss gestatten, allgemein. Ich meine damit, dass rücksichtlich der unorganischen Bestandteile kein Unterschied darin besteht, ob die organische Substanz zugleich mit entfernt wird, wie bei der Caries oder erst später, wie bei der Osteomalacie, der regressiven Metamorphose anheimfällt.

Bezüglich der organischen Substanz, die wir nach vorheriger Entkalkung des Knochens mittelst verdünnter Säure (H Cl 2—3 %), Erhitzen im zugeschmolzenen Glasrohr im Luftbad bei 110—120° während 12—24 Stunden bis zur möglichst vollständigen Lösung erhielten, können wir uns kurz fassen, denn wir kamen zu einem ziemlich negativen Resultat, insofern nämlich, als in den verschiedenen Knochenpartien — Compacta sowohl als auch in den Spongiosae — der gelöste Teil stets aus Leim bestand, der alle die bekannten Reactionen gab. Nur ganz geringe Spuren von Eiweiss waren vorhanden (Rothfärbung nach Erwärmen mit Millons Reagens, Biuretreaction), dessen Herkunft wohl den Gefässen zuzuschreiben ist. Die beiden Reactionen nämlich fielen am schärfsten und deutlichsten aus in der reinen Spongiosa und sind daher höchstwahrscheinlich in Beziehung zu bringen zu der von v. Recklinghausen gemachten Angabe, dass die Auflösung der Knochengrundsubstanz nach stattgehabter Entkalkung bei der

Osteomalacie vom Mark aus besonders reichlich durch perforirende Kanäle erfolge. In jenem Teil, der Spongiosa nämlich, finden wir auch den grössten Teil der ungelöst gebliebenen organischen Substanz, eine Thatsache, worauf schon Mommsen und Langendorf[1]) hingewiesen haben, da sie in ihrem Fall 23,19 % Leim und 39,04 % ungelöste Substanz angeben. Ueber das quantitative Verhältniss der organischen Substanz, sowie über das des ungelösten Teils zur gesammten Knochensubstanz möge folgende Tabelle Aufschluss geben:

Tabelle VIII.

Knochenteil.	Gelöster Teil (Leim) auf 100 T. Substanz.	Ungelöster Teil.	Bemerkung.
Compacta	28,383	5,09	Der ungelöste Teil bestand aus Gefässresten, aus Fasern und aus braunrothem Pigment (Blut).
Spongiosa	36.393	33,61	
Spongiosa vom Schenkelhals .	43,805	2,3718	

Fassen wir zusammen, welche Gesichtspunkte uns bis jetzt von der chemischen Seite bezüglich des osteomalacischen Processes entgegengetreten sind, so lässt sich derselbe als eine tiefgreifende Ernährungsstörung auffassen, bei der nicht allein die Harmonie zwischen An- und Abbau von Knochensubstanz, wie sie physiologischerweise vorhanden, gestört ist, sondern letzterer zu Ungunsten des ersteren die Scene beherrscht. Derselbe erfolgt jedoch nicht regellos, sondern er vollzieht sich etwa unter den ähnlichen Bedingungen wie der physiologische Anbau, in der Weise nämlich, dass die Salze insbesondere die Phosphate und Carbonate in den gleichen Verhältnissen entfernt werden, wie sie sich bei ihrer Anlagerung zusammenfanden. Erst später folgt die organische Substanz der regressiven Metamorphose.

---

[1]) L. c., S. 472.

Noch ein Wort bezüglich derjenigen Forschungen, die den Zweck verfolgten, die Bahnen kennen zu lernen, auf denen die Ausfuhr der bei der Osteomalacie abgebauten Materialien erfolgt. In dieser Beziehung finden wir die mannigfaltigsten und wunderlichsten Wege angeführt: Harnwege, Darm, Milch[1]), Speichel- und Schleimdrüsen[2]), Bronchien[3]): offenbar ein Beweis dafür, dass sichere Resultate hierüber überhaupt nicht existiren. Die vermehrte Ausfuhr von Phosphaten und von Kalk im Harn ist inconstant und war in einigen Fällen sogar noch vermindert (Höxter[4]), Fehling[5]), Mommsen und Langendorf[6]). Ich will es dahingestellt sein lassen, in welchen Beziehungen die vielfachen Befunde von Concrementen in den Harnwegen zur ursprünglichen Krankheit stehen, Concremente, die nicht aus Uraten bestanden. Bouley und Hanot, Langendorf und Mommsen, Wulff und ein anderer bei letzterem citirter russischer Autor fanden dieselben fast ausschliesslich aus $(PO_4)_2Ca_3$ und $(PO_4)_2Mg_3$ bestehend. Vorwiegend dürfte die Ausfuhr des Ca mit den Fäcalien als Ca-Salz der fetten Säuren erfolgen. Ueber verursachte Ausfuhr von Phosphorsäure aus den Darmkanal liegt eine Nachricht vor von Breuss[7]). Indessen ist auf alle diese Angaben kein zu grosses Gewicht zu legen. Denn einmal kann die Ausfuhr der Salze aus den Knochen schubweise erfolgen und das schon, bevor klinisch die Erscheinungen der Krankheit zu Tage treten; zweitens können nur solche Angaben ein Recht auf Genauigkeit beanspruchen, die zugleich die Grösse der Einfuhr berücksichtigen; denn wenn man bedenkt, dass bei den meisten derartigen Kranken, die man in Anbetracht ihres Leidens durch Darreichung einer kräftigen

---

[1]) Gusserow, Monatsschrift f. Geburtskunde. XX, S. 19.
[2]) Senator in Ziemssen's Handbuch der spez. Pathol., XIII.
[3]) Pagenstecher, Monatschrift f. Geburtskunde, XIX, S. 111.
[4]) L. c.
[5]) L. c.
[6]) L. c.
[7]) G. Braun, Centralblatt f. Gynäkolog. 1881, Bd. XII, Ges. der Aerzte.

Kost unter günstigere Ernährungsbedingungen zu setzen sucht, die Resorption in Folge des Allgemeinleidens darniederliegen dürfte, so sind alle die gemachten Angaben zur Beurteilung des gestörten Stoffwechsels nur mit äusserster Vorsicht zu verwerten.

Im Einzelnen lassen sich die Hauptergebnisse der vorliegenden Untersuchung folgendermassen zusammenfassen:

I. Die mineralischen Bestandteile sind bei der Osteomalacie gegenüber denen der normalen Knochen im Ganzen vermindert.

II. Das Verhältniss 6 PO_4 : 10 Ca in den normalen Knochen ist auch bei der Osteomalacie in allen Teilen derselben erhalten geblieben. Die Abnahme der Phosphate erfolgt also in demselben quantitativen Verhältnisse wie die der Carbonate.

III. Frische, normale Knochen mit Milchsäure in verdünnter Lösung behandelt, verlieren viel mehr CO_2 als Phosphorsäure: eine chemische Lösung der Salze durch eine freie Säure aus diesem Grunde also schon unmöglich. Eine freie Säure in den Knochen würde auch bei ihrer Wirkung die Correlation 6 PO_4 : 10 Ca nicht intact lassen.

IV. Der Knochenabbau geschieht bei der Osteomalacie nach Art einer wirklichen Entkalkung: ein Molecül des Phosphatcarbonats wird nach dem anderen entfernt.

V. Mit grosser Wahrscheinlichkeit lässt sich annehmen, dass sich der Knochenabbau in derselben Weise vollzieht bei Krankheiten, bei denen zugleich organisches und unorganisches Material entfernt wird.

VI. Die organische, leimgebende Grundsubstanz erleidet insofern keine qualitative Veränderung, als sie auch in den höheren Stadien der Krankheit noch immer die Eigenschaften des Glutins zeigt; nur mischen sich später vom Markgewebe aus Elemente

mit dem Charakter der Eiweissstoffe hinzu, die ihre absolute Quantität erhöhen.

Physiologisch-chemisches Institut der Universität Strassburg, im December 1893.

Zum Schluss sei es dem Verfasser gestattet, seinem hochverehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. F. Hoppe-Seyler, für die Anregung zu dieser Arbeit, sowie für die vielfachen Unterstützungen, die er ihm während der Dauer derselben zu Teil werden liess, seinen wärmsten Dank auszusprechen.

Ueber den Einfluss kalter Bäder auf die Stickstoff- und Harnsäure-Ausscheidung beim Menschen.

Von

Dr. Emanuel Formánek.

(Aus dem Laboratorium des Prof. Dr. J. Horbaczewski an der k. k. böhm. Universität in Prag.)

(Der Redaction zugegangen am 19. Februar 1894.)

Im Anschlusse an die vor Kurzem mitgetheilten Versuche[1]) über die Wirkung heisser Bäder auf den Eiweissumsatz und die Harnsäurebildung beim Menschen, bei denen eine zweifellose Steigerung des Eiweisszerfalles sowie der Harnsäure-Ausscheidung, beziehungsweise -Bildung sicher gestellt wurde, wurden weitere Versuche unternommen, um den Einfluss auch kalter Bäder, beziehungsweise der Wärmeentziehung in besagter Richtung sicherzustellen.

Ueber die Beeinflussung des Eiweisszerfalles durch Wärmeentziehung liegt nur die Untersuchung von R. Lépine und Flavard[2]) vor. Ein hungernder Hund, der täglich im Mittel 1,4 gr. Stickstoff ausschied, wurde am 9. Tage durch ein zweimal wiederholtes Bad von 4° C und 15 Min. Dauer von 39° C auf 33° C abgekühlt. An den 3 nachfolgenden Tagen (10.—12. Tag) stieg die Stickstoffausscheidung bei demselben im Mittel auf 4,8 gr. pro Tag. Am 16. Tage wurde das Bad, dessen Temperatur 2,5° C. betrug, zweimal wiederholt, worauf

---

[1]) Sitzungsberichte der k. Academie in Wien, Cl., Abth. III, April 1892, Monatshefte f. Chemie 13, 476—481.

[2]) Gazette médicale de Paris, 1880, pag. 162.

die Körpertemperatur des Thieres bis auf 29,3° C sank. An den 3 nachfolgenden Tagen enthielt der stark eiweisshaltige Harn im Mittel pro Tag 4,6 gr. Stickstoff. Diese Versuche ergaben daher eine bedeutende Steigerung des Eiweisszerfalles nach künstlicher Abkühlung eines seit längerer Zeit hungernden Thieres.

Der im Nachfolgenden mitgetheilte Versuch wurde an einem 24 Jahre alten Candidaten der Medicin in der Zeit vom 8. November bis 15. Dezember 1893 ausgeführt. Die Nahrung während des ganzen Versuches bestand aus:

1. Wurst. Dieselbe wurde für den Versuch eigens bereitet, indem Fleisch und Speck, entsprechend gesalzen und gewürzt, durch eine Wurstmaschine viermal getrieben wurde, so dass die Bestandtheile möglichst gleich in der ganzen Wurstmasse vertheilt waren. Durch Stickstoffbestimmungen der einzelnen Proben der Wurst wurde die gleichmässige Zusammensetzung derselben festgestellt. Dieselbe wurde bei Winterkälte aufbewahrt und in der Tagesration von 200 gr. genossen.
2. Emmenthaler Käse wurde für den ganzen Versuch in einem Stücke auf einmal angekauft und nach Ermittelung des Stickstoffgehaltes desselben in einem hermetisch schliessenden Glasgefässe in der Winterkälte aufbewahrt.
3. Brod wurde aus gutem, vorher analysirten Weizenmehl unter Zusatz von etwas Hefe, Salz und Wasser und zwar für jeden Tag ein Laibchen aus 144 gr. Mehl eigens gebacken.
4. Reis. Eine gute Reissorte wurde in grösserer Menge angekauft und analysirt. Die tägliche Reismenge 100 gr. wurde mit Wasser gekocht, mit der fein zerhackten Wurst gemischt und zum Mittagmahle verspeist.
5. Butter — in einer Tagesration von 100 gr. — wurde ebenfalls für den ganzen Versuch angekauft und nach Ermittelung des Stickstoffgehaltes entsprechend in der Kälte aufbewahrt.

6. Bier (leichtes Smichower Flaschenbier). Täglich 1400 cbcm.
7. Thee. Theeinfus aus 0,4 gr. russischen Thee.
8. Zucker, 20 gr.
9. Wasser, 350 cbcm.
10. Kochsalz, 5 gr.

Der Stickstoffgehalt der täglich genossenen Nahrung betrug in:

200 gr. Wurst	6,18 gr.
100 gr. Emmenthaler Käse	4,95 gr.
1 Laibchen Brod (aus 144 gr. Mehl)	2,76 gr.
100 gr. Reis	1,29 gr.
100 gr. Butter	0,08 gr.
1400 cbcm. Bier	0.56 gr.
0,4 gr. Thee (vernachlässigt).	
20 gr. Zucker	0 gr.
5 gr. Salz	0 gr.
350 cbcm. Wasser	0 gr.
Zusammen	15,82 gr.

Die Stickstoffbestimmungen in der Nahrung sowie im Harne und den Fäces wurden nach der volumetrischen Methode nach Ludwig[1]) mit einer Modification von Horbaczewski[2]) ausgeführt.

Die Lebensweise des Versuchsmannes, der vollkommen gesund und gut genährt war, war möglichst gleichmässig. Die Nahrungsaufnahme wurde auf drei Mahlzeiten vertheilt. Das Frühstück (um 7½ Uhr früh) bestand aus einem Theeinfus mit 20 gr. Zucker, ¼ Laibchen Brod und 70 gr. Wurst. Das Mittagsmahl (um 12 Uhr Mittags) bestand aus Risotto (aus 130 gr. Wurst, 100 gr. Reis und 75 gr. Butter), 500 cbcm. Bier und ¼ Laibchen Brod. Das Abendessen (um 7½ Uhr Abends) bestand aus 100 gr. Käse, 25 gr. Butter, ¼ Laibchen Brod und 900 cbcm. Bier.

Der Harn wurde von 7½ früh des einen bis 7½ Uhr früh des nächsten Tages gesammelt und in demselben der

---

[1]) Wiener medic. Jahrbücher 1880, 4.

[2]) Ebenda 1886.

Gesammtstickstoff sowie auch Harnsäure (nach Salkowski-Ludwig) bestimmt. Die Fäces entweder von einem Tage oder von mehreren Tagen wurden gesammelt, gewogen, gut durchgemischt, analysirt und die erhaltene Stickstoffmenge auf einzelne Tage vertheilt.

Die Temperatur wurde dreimal täglich in der Mundhöhle gemessen und zwar um 7½ Uhr früh, um 12 Uhr Mittags und um 7½ Uhr Abends. Dieselbe schwankte während der Normalperioden zwischen 36,7°—37° C.

Einer 7 tägigen Vorperiode, in welcher die erwähnte Nahrung genossen wurde, folgte eine 14 tägige Normalperiode Am 15. Tage wurde ein kaltes Wannenbad von 30 Min. Dauer genommen. Die Wassertemperatur vor dem Bade betrug 15° C, nach dem Bade 15,5° C. Die Temperatur im Munde war vor dem Bade 36,7° C und fiel nach dem Bade auf 32° C.

¼	Stunde	nach	dem	Bade	betrug	die	Temperatur	im	Munde	32° C.
½	»	»	»	»	»	»	»	»	»	33° »
1	»	»	»	»	»	»	»	»	»	35° »
1½	»	»	»	»	»	»	»	»	»	35,4° »
2	»	»	»	»	»	»	»	»	»	36,8° »
3	»	»	»	»	»	»	»	»	»	36,6° »
4	»	»	»	»	»	»	»	»	»	37° »
5	»	»	»	»	»	»	»	»	»	36,8° »
6	»	»	»	»	»	»	»	»	»	36.8° »

Diesem Badetage folgte eine Normalperiode von 4 Tagen (Versuchstage 16.—19.). Hierauf wurden an drei folgenden Tagen (Versuchstage 20.—22.) täglich zwei kalte Wannenbäder und zwar das eine Vor-, das zweite Nachmittag genommen.

Am 20. Versuchstage erstes Bad. Die Dauer des Bades 35 Min. Die Temperatur des Wassers 16,2° C. Bei dieser Temperatur verblieb der Versuchsmann 5 Min. im Bade, worauf kaltes Wasser zugegossen wurde bis die Temperatur des Bades auf 14,3° C fiel. Auf dieser Höhe hielt sich die Wassertemperatur während der ganzen Dauer des Bades. Die Temperatur im Munde vor dem Bade betrug 36,8° C, nach dem Bade 34,8° C.

1/4 Stunde nach dem Bade betrug die Temperatur im Munde 33,6° C.
1/2 » » » » » » » » » 33,9° »
1 » » » » » » » » » 34,6° »
2 » » » » » » » » » 35,6° »
3 » » » » » » » » » 36,4° »
4 » » » » » » » » » 36,9° »
5 » » » » » » » » » 36,9° »

Am 20. Versuchstage zweites Bad. Die Dauer des Bades 40 Min. Die Temperatur des Wassers 14,9° C. Die Temperatur im Munde vor dem Bade 36,7° C, nach dem Bade 35,4° C.

1/4 Stunde nach dem Bade betrug die Temperatur im Munde 33,9° C.
1/2 » » » » » » » » » 34,4° »
1 » » » » » » » » » 36,3° »
2 » » » » » » » » » 36,3° »
3 » » » » » » » » » 36,4° »
4 » » » » » » » » » 36,6° »
5 5 » » » » » » » » 36,6° »

Am 21. Versuchstage erstes Bad. Die Dauer des Bades 35 Min. Die Temperatur des Wassers 14,4° C vor dem Bade, 15,7° C nach dem Bade. Die Temperatur im Munde vor dem Bade 36,7° C, nach dem Bade 36,3° C.

1/4 Stunde nach dem Bade betrug die Temperatur im Munde 34,4° C.
1 » » » » » » » » » 35,5° »
2 » » » » » » » » » 36,6° »
3 » » » » » » » » » 36,8° »
4 » » » » » » » » » 36,8° »

Am 21. Versuchstage zweites Bad. Die Dauer des Bades 45 Min. Die Temperatur des Wassers vor dem Bade 14,9° C, nach dem Bade 16,4° C. Die Temperatur im Munde vor dem Bade 36,8° C, nach dem Bade 36,2° C.

1/4 Stunde nach dem Bade betrug die Temperatur im Munde 34,7° C.
1 » » » » » » » » » 35,2° »
2 » » » » » » » » » 36,2° »
3 » » » » » » » » » 36,3° »
4 » » » » » » » » » 36,6° »
5 » » » » » » » » » 36,6° »

Am 22. Versuchstage erstes Bad. Die Dauer des Bades 35 Min. Die Temperatur des Wassers vor dem Bade 14,1° C,

stieg nach dem Bade auf 15,7° C. Die Temperatur im Munde betrug vor dem Bade 36,5° C, nach dem Bade 35,9° C.

1/4 Stunde nach dem Bade betrug die Temperatur im Munde 34,6° C.
1/2 » » » » » » » » » 34,9° »
1 1/2 » » » » » » » » » 36,8° »
2 » » » » » » » » » 37° »
3 » » » » » » » » » 37° »

Am 22. Versuchstage zweites Bad. Die Dauer des Bades 30 Min. Die Temperatur des Wassers vor dem Bade war 14,4° C, nach dem Bade 16° C. Die Temperatur im Munde vor dem Bade 36,7° C, nach dem Bade 35,6° C.

1/4 Stunde nach dem Bade betrug die Temperatur im Munde 34,5° C.
1/2 » » » » » » » » » 34,6° »
1 » » » » » » » » » 35,7° »
2 » » » » » » » » » 36,4° »
3 » » » » » » » » » 36,4° »
4 » » » » » » » » » 36,6° »
5 » » » » » » » » » 36,6° »

Diesen drei Badetagen folgte wieder eine dreitägige Normalperiode (Versuchstage 23.—25.) und dieser wiederum eine dreitägige Badeperiode (Versuchstage 26.—28.). An dem ersten Tage dieser Badeperiode ist nur ein Bad genommen worden, an den zwei übrigen immer zwei Bäder, das eine Vor-, das andere Nachmittags.

Am 26. Versuchstage ein Bad. Die Dauer des Bades 27 Min. Die Temperatur des Wassers vor dem Bade 14,2° C, nach dem Bade 15,8° C. Die Temperatur im Munde vor dem Bade 36,8° C, nach dem Bade 36,2° C.

1/4 Stunde nach dem Bade betrug die Temperatur im Munde 35,2° C.
1/2 » » » » » » » » » 35,2° »
1 » » » » » » » » » 36° »
2 » » » » » » » » » 36,4° »
3 » » » » » » » » » 36,6° »
4 » » » » » » » » » 37,2° »
5 » » » » » » » » „ 37,2° »

Am 27. Versuchstage erstes Bad. Die Dauer des Bades 38 Min. Die Temperatur des Wassers vor dem Bade 14,3° C,

nach dem Bade stieg dieselbe auf 16,3° C. Die Temperatur im Munde vor dem Bade betrug 36,6° C, nach dem Bade 36,1° C.

1/4	Stunde nach dem Bade betrug die Temperatur im Munde	34,7° C.
1/2	» » » » » » » » »	35,1° »
1	» » » » » » » » »	36° »
2	» » » » » » » » »	36,7° »
3	» » » » » » » » »	36,7° »

Am 27. Versuchstage zweites Bad. Die Dauer des Bades 35 Min. Die Temperatur des Wassers vor dem Bade 14,8° C, nach dem Bade 16,8° C. Die Temperatur im Munde vor dem Bade 36,7° C, nach dem Bade 35,9° C.

1/4	Stunde nach dem Bade betrug die Temperatur im Munde	34,7° C.
1/2	» » » » » » » » »	35,6° »
1	» » » » » » » » »	36,3° »
2	» » » » » » » » »	36,3° »
3	» » » » » » » » »	36,3° »

Am 28. Versuchstage erstes Bad. Die Dauer des Bades 40 Min. Die Temperatur des Wassers vor dem Bade 14,1° C, nach dem Bade 16,3° C. Die Temperatur im Munde vor dem Bade 36,9° C, nach dem Bade 36° C.

1/4	Stunde nach dem Bade betrug die Temperatur im Munde	34,5° C.
1/2	» » » » » » » » »	35,1° »
1	» » » » » » » » »	36,5° »
3	» » » » » » » » »	36,5° »
3	» » » » » » » » »	36,5° »

Am 28. Versuchstage zweites Bad Die Dauer des Bades 45 Min. Die Temperatur des Wassers vor dem Bade 13° C, nach dem Bade 15,1° C. Die Temperatur im Munde vor dem Bade 36,8° C, nach dem Bade 35,7° C.

1/4	Stunde nach dem Bade betrug die Temperatur im Munde	34,6° C.
3/4	» » » » » » » » »	35,7° »
1	» » » » » » » » »	36,3° »
2	» » » » » » » » »	36,3° »
3	» » » » » » » » »	36,3° »

In der folgenden Tabelle sind die bei der Analyse des Harnes und der Fäces erhaltenen Werthe, sowie diejenigen des täglich früh ermittelten Körpergewichtes (ohne Kleider) des Versuchsmannes zusammengestellt.

Tag.	Körpergewicht in kgr.	Reaction des Harnes.	Stickstoffgehalt der Nahrung in gr.	Quantum des Harnes in cbcm.	Specif. Gewicht des Harnes.	Stickstoffgehalt des Harnes in gr.	Menge der Fäces in gr.	Stickstoffgehalt der Fäces in gr.	Menge des Gesammtstickstoffes in gr.	Menge der Harnsäure in gr.	Anmerk
1.	59,900	sauer	15,82	1050	1,032	14.63	122,1	1,47	16,10	0 6815	
2.	59,850	»	»	1030	1,031	13,45	122,1	1,47	14,92	0,6922	
3.	59,900	»	»	1080	1,030	13,48	122,1	1,47	14,95	0,7074	
4.	59,940	»	»	1005	1,031	12,71	122,1	1,47	14,18	0,6854	
5.	59,700	»	»	1070	1,027	13,24	127,7	1,52	14,76	0,6816	
6.	60,000	»	»	970	1,031	14,63	127,7	1,52	16,15	0,7236	
7.	60,120	»	»	1010	1,032	14,71	127,7	1,52	16,23	0,6717	I. Norm…
8.	60,370	»	»	1150	1,026	13,45	127,7	1,52	14,97	0,6843	perio…
9.	60,400	»	»	1400	1,024	12,11	127,7	1,52	13,63	0,6342	
10.	60,600	»	»	1350	1,026	13,72	127,7	1,52	15,24	0,6750	
11.	60,300	»	»	1050	1,026	12,50	145,0	1,60	14,10	0,6125	
12.	60,300	»	»	1210	1,023	13,48	127,7	1,52	15,00	0,6842	
13.	60,450	»	»	1185	1,028	12,60	118,1	1,58	14,18	0,6873	
14.	60,450	»	»	1010	1,031	12,35	118,1	1,58	13,93	0,6555	
						13,48			**14 88**	**0,6769**	Mittel.
15.	60,600	»	»	1210	1,031	**11.96**	119,5	1,59	**13,55**	**0,7078**	Badetag.
15.	60,550	»	»	1320	1,026	12,91	119,5	1,59	14,50	0,7273	
17.	60,350	»	»	1055	1,028	13,24	119,5	1,59	14,83	0,6688	II. Norm…
18.	60,550	»	»	1120	1,029	12,71	119,5	1,59	14,30	0,7818	period
19.	60,700	»	»	1000	1,028	12,73	119,5	1,59	14,32	0,7030	
						12,89			**14.52**	**0.7202**	Mittel.
20.	60,850	»	»	1120	1,029	13.40	142,0	1.90	15,30	0,7415	
21.	60,750	»	»	1000	1,030	16.22	142.0	1,90	18,12	0,7040	Badeperic
22.	60,900	»	»	1049	1,031	13,92	142,0	1,90	15,82	0.7563	
						14,51			**16,41**	**0,7339**	Mittel.
23.	61,000	»	»	1060	1,032	14,01	106,0	1,58	15 59	0,7727	III. Norm
24.	61,050	»	»	1055	1,030	12,82	106,0	1,58	14,40	0,6341	perio…
25.	61.100	»	»	1300	1,025	13,48	106,0	1,58	15,06	0,7059	
						13,48			**15,01**	**0,7018**	Mittel.
26.	61,100	»	»	1190	1,029	13,65	112,0	1,93	15,58	0,6771	
27.	61,000	»	»	1180	1,030	14,40	112,0	1,93	16,34	0,7174	Badeperic
28.	61,100	»	»	1180	1,030	15,38	112,0	1,93	17,31	0,7623	
						14,47			**16,41**	**0,7165**	Mittel.
29.	61,150	»	»	1050	1,029	13,41	120,0	1,59	15,00	0,7739	IV. Norm…
30.	61,250	»	»	1350	1,026	13,72	120,0	1,59	15,31	0,6750	period
31.	61,400	»	»	1150	1,029	13,45	120,0	1,59	15,04	0,6843	
						13,52			**15,11**	**0,7111**	Mittel.

Zu bemerken ist vor Allem, dass der Versuchsmann die oben erwähnte Nahrung während des ganzen Versuches gerne genoss, gut vertrug und immer vollständig aufzehrte. Da die Nahrung pro Tag 15,82 gr. Stickstoff enthielt, während durch den Harn und die Fäces des Versuchsmannes während der 14tägigen Normalperiode im Mittel pro Tag 14,88 gr. Stickstoff ausgeschieden wurden, so befand sich derselbe nicht ganz im Stickstoffgleichgewichte, sondern setzte eine geringe Menge von Eiweiss und offenbar auch Fett am Körper an. Dementsprechend stieg auch das Körpergewicht desselben während dieser Periode von 59,900 kgr. auf 60,450 kgr., demnach im Ganzen um 550 gr. Auch während der nachfolgenden 17 Versuchstage stieg das Körpergewicht mit unbedeutenden Schwankungen — ausgenommen die II. und III. Badeperiode, in denen das Körpergewicht keine Veränderungen zeigte — continuirlich, so dass dasselbe am 31. Versuchstage den Werth von 61,400 kgr. erreichte.

Was die Stickstoffausscheidung durch den Harn anbelangt, so erscheint dieselbe unter dem Einflusse eines kalten Bades (am 15. Versuchstage) kaum verändert eher jedoch herabgesetzt. Wurden aber an drei nacheinander folgenden Tagen je 2 kalte Bäder genommen, so dass eine ausgiebigere Wärmeentziehung stattfand, so stieg die Stickstoffausscheidung mit dem Harne an den Badetagen merklich und zwar von den ursprünglichen 13,43 gr. auf 14,51, respective 14,47 gr. im Mittel für einen Badetag.

Dieses Ansteigen der Stickstoffausscheidung durch den Harn ist um so auffallender, als die Ausnützung des Nahrungseiweisses an den erwähnten Badetagen etwas schlechter war, als an den Normaltagen, so dass weniger Eiweiss zur Resorption gelangte. Während nämlich an den Normaltagen die 24stündigen Fäces 1,47—1,60 gr. N enthielten, betrug der Stickstoffgehalt des Fäces an den 6 Badetagen 1,90 gr., beziehungsweise 1,93 gr. pro Tag. Die Gesammt-Stickstoff-Ausscheidung erreichte daher während der beiden 3tägigen Badeperioden merklich höhere Werthe, als in den Normalperioden, nämlich im Mittel 16,41 gr. pro Badetag gegenüber

14,52—15,11 gr. Stickstoff, die im Mittel pro Tag in den einzelnen Normalperioden ausgeschieden wurden, und war auch grösser, als die Menge des mit der Nahrung eingeführten Stickstoffs, die täglich 15,82 gr. betrug, so dass während der erwähnten 6 Badetage durchschnittlich 0,59 gr. Stickstoff, beziehungsweise die entsprechende Menge von Eiweiss vom Körper abgegeben und zersetzt wurde.

Diese Verstärkung des Eiweisszerfalles unter dem Einflusse kalter Bäder, respective der Wärmeentziehung ist bei weitem nicht so auffallend und hochgradig, wie die von Lépine und Flavard beobachtete. Allerdings waren die Versuchsbedingungen in beiden Fällen ganz verschieden. Während im ersten Falle an einem seit längerer Zeit hungernden Thiere experimentirt wurde, welches den Stoffwechsel offenbar hauptsächlich oder höchst wahrscheinlich sogar ausschliesslich mit seinem Körpereiweiss bestritt, handelte es sich bei dem vorliegenden Versuche um einen Mann, der mit der genossenen Nahrung nicht nur seinen Körperbestand erhielt, sondern auch etwas Eiweiss ansetzte. Auch konnte in diesem Falle eine so ausgiebige Wärmeentziehung wie bei einem Versuchsthiere aus naheliegenden Gründen nicht erreicht werden. Das sind Momente, welche die in beiden Versuchsreihen beobachteten quantitativen Differenzen in dem Verhalten des Stickstoffumsatzes zur Genüge erklären dürften.

Was das Verhalten der Harnsäureausscheidung anbelangt, so zeigen die beim Versuche beobachteten Werthe, dass dieselbe an den Badetagen insgesammt eine geringe Steigerung erfahren hat, die in allen Fällen noch einen Tag nach dem Bade anhält. Dieser letztere Umstand dürfte kaum anders zu erklären sein, als dass an den Badetagen nicht die ganze gebildete Harnsäure ausgeschieden wurde, sondern zum Theile erst am nachfolgenden Tage zur Ausscheidung gelangte, was beim Stickstoff nicht der Fall ist. Im Grossen und Ganzen hält die Harnsäureausscheidung mit der Stickstoffausscheidung ziemlich gleichen Schritt. Die beobachtete Steigerung der Harnsäureausscheidung ist nicht bedeutend, jedoch der übrigens auch nicht bedeutenden Steigerung der Stickstoffausscheidung

entsprechend — mit Ausnahme des 18. Versuchstages, an dem unerklärlicher Weise eine abnorm hohe Harnsäureausscheidung stattfand, deren Grund nicht bekannt ist.

Das im vorliegenden Versuche sichergestellte Verhalten der Harnsäureausscheidung entspricht vollkommen der anderweitig begründeten Vorstellung, dass die Harnsäure als ein Zerfallsprodukt der nucleïnhaltigen Körperbestandtheile zu betrachten ist. Sobald demnach unter dem Einflusse der Wärmeentziehung der Zerfall des Körpereiweisses steigt, vermehrt sich auch die Menge der gebildeten, respective ausgeschiedenen Harnsäure.

Während der Drucklegung der vorstehenden Abhandlung erschien die Untersuchung von R. Topp[1]) über den Einfluss heisser Bäder auf die Stickstoffausscheidung beim Menschen, die dieselben Resultate ergab, wie meine bereits im Jahre 1892 ausgeführte, Eingangs erwähnte Untersuchung. Verfasser berücksichtigt jedoch dieselbe, sowie auch eine Reihe älterer Arbeiten über denselben Gegenstand (von Simanowski, Makowiecki, Frey und Heiligenthal, Kostjurin, Godlewsky, Kaup, P. Richter), die ihm offenbar gar nicht bekannt zu sein scheinen, nicht. Da diese Frage als endgültig gelöst zu erachten ist, so erscheint die Untersuchung von R. Topp nur als eine weitere Bestätigung der bezeichneten früheren Arbeiten, deren Erwähnung vermisst wird.

---

[1]) Therapeutische Monatshefte 1894, 1. u. 2. Heft.

Beeinflussen die in Vegetabilien vorkommenden Fermente die Ausnützung der Nahrung im Organismus?

Von

H. Weiske.

(Der Redaction zugegangen am 22. Februar 1894.)

In gewissen Vegetabilien sind bekanntlich amylolytische, proteolytische u. a. Fermente vorhanden, welche unter geeigneten Umständen sowohl ausserhalb als auch innerhalb des Organismus ihre eigenthümliche verdauende Wirkung auf die betreffenden Nahrungsstoffe auszuüben vermögen, beim Erhitzen aber unwirksam werden. Insbesondere ist von Ellenberger und Hofmeister gezeigt worden, dass amylolytisches und auch proteolytisches Ferment in Körnern, wie Hafer, Mais, Reis etc., sehr verbreitet vorkommt, und dass bei Verfütterung derartiger Substanzen im rohen Zustand ein grosser Theil der oft recht erheblichen Zuckerbildung im Magen auf Rechnung des in den betreffenden pflanzlichen Nahrungsmitteln enthaltenen amylolytischen Fermentes gesetzt werden muss.

Um nun zu prüfen, ob die in rohen pflanzlichen Nahrungsmitteln enthaltenen Fermente auf die bessere Ausnützung der Nahrungsstoffe im Organismus von Einfluss sind, wurde von mir folgender Versuch ausgeführt[1]). Zwei ausge-

[1]) Eine ausführliche Beschreibung dieser Versuche, welche gleichzeitig auch zur Beantwortung noch anderer Fragen angestellt wurden, soll später in den «landw. Versuchs-Stationen» erfolgen.

wachsene, zuvor gleichmässig ernährte Kaninchen ein und desselben Wurfes bekamen in 2 Fütterungsperioden täglich genau das gleiche Futter, nämlich pro Stück 80 gr. Hafer, jedoch mit dem Unterschied, dass in der I. Periode Kaninchen Nr. I sein Futter im ursprünglichen rohen Zustand erhielt, wogegen der an Kaninchen Nr. II verfütterte Hafer zur Tödtung der in ihm enthaltenen Fermente zuvor 24 Stunden lang in feuchter und alsdann ebensolange in trockener Luft auf 100° C erhitzt worden war. In der II. Periode kehrte man die Fütterungsweise um, so dass jetzt Kaninchen Nr. I den erhitzten und Kaninchen Nr. II den rohen Hafer erhielt.

Die I. Periode dauerte vom 28. Januar bis 20. Februar, die II. Periode vom 21. Februar bis 9. März. Während der ganzen Versuchszeit wurde das vorgelegte Futterquantum von beiden Versuchsthieren stets vollständig aufgefressen. Die erste Hälfte jeder Periode diente als Vorperiode, die zweite (10 Tage) als Hauptperiode, in welcher die Darmexcremente quantitativ gesammelt und analysirt wurden. Ein Vergleich der im täglich aufgenommenen Hafer enthaltenen Bestandtheile gegenüber den durchschnittlich pro Tag im Darmkoth ausgeschiedenen ergab die Menge der zur Verdauung gelangten Substanzen und zwar waren die hierbei erhaltenen Resultate folgende:

Per. I. Kaninchen I (roher Hafer).

	Trocken-substanz.	Eiweiss.	Fett.	Rohfaser.	N-fr. Extract-stoff.	Asche.
80 gr Hafer	75,61 gr.	8,17 gr.	4,53 gr.	9,03 gr.	51,49 gr.	2,39 gr.
Fäces	19,88 gr.	1,67 gr.	0.38 gr.	7.65 gr.	8,87 gr.	1,31 gr.
Verdaut . . .	55,73 gr.	6.50 gr.	4,15 gr.	1,38 gr.	42,62 gr.	1,08 gr.
» . . .	73,7 %	79,5 %	91,6 %	15,3 %	82,8 %	45,2 %

Per. I. Kaninchen II (erhitzter Hafer).

	Trocken-substanz.	Eiweiss.	Fett.	Rohfaser.	N-fr. Extract-stoff.	Asche.
80 gr. Hafer	75,61 gr.	8,17 gr.	4,53 gr.	9,03 gr.	51,49 gr.	2,39 gr.
Fäces	18,55 gr.	1,79 gr.	0 54 gr.	7,12 gr.	7,78 gr.	1,32 gr.
Verdaut . . .	57,06 gr.	6,38 gr.	3,99 gr.	1,91 gr.	43,71 gr.	1,07 gr.
» . . .	75,7 %	78,1 %	88,1 %	21,1 %	84 9 %	44,8 %

Per. II. Kaninchen I (erhitzter Hafer).

	Trocken-substanz.	Eiweiss.	Fett.	Rohfaser.	N-fr. Extract-stoff.	Asche.
80 gr. Hafer	75.61 gr.	8,17 gr.	4,53 gr.	9,03 gr.	51,49 gr.	2,39 gr.
Fäces	18,61 gr.	1.97 gr.	0 35 gr.	7,06 gr.	8,04 gr.	1,19 gr.
Verdaut . . .	57,00 gr.	6,20 gr.	4,18 gr.	1,97 gr.	43,45 gr.	1,20 gr.
» . . .	75,4 %	75,9 %	92,3 %	21,8 %	84,4 %	50,2 %

Per. II. Kaninchen II (roher Hafer).

	Trocken-substanz.	Eiweiss.	Fett.	Rohfaser.	N-fr. Extract-stoff.	Asche.
80 gr. Hafer	75,61 gr.	8,17 gr.	4,53 gr,	9,03 gr.	51,49 gr.	2,39 gr.
Fäces	18,78 gr.	2,00 gr.	0,34 gr.	7,14 gr.	8,08 gr.	1,22 gr.
Verdaut . . .	56,83 gr.	6,17 gr.	4,19 gr.	1,89 gr.	43,41 gr.	1.17 gr.
» . . .	75,2 %	75,5 %	92,5 %	20,9 %	84,3 %	49,0 %

Es dürfte aus vorstehenden Resultaten hervorgehen, dass in beiden Fällen die Nahrung gleich gut verdaut worden ist, dass also unter normalen Verdauungsverhältnissen im Organismus die Gegenwart von Verdauungsfermenten in der Nahrung keinen Einfluss auf deren bessere Ausnützung ausübt.

Thierchemisches Institut der Universität Breslau, im Februar 1894.

Ueber Cholsäure.

Von

Karl Landsteiner.

(Aus dem Laboratorium für medicinische Chemie in Wien.)

(Der Redaction zugegangen am 24. Februar 1894.)

Ueber die Form, in welcher der Sauerstoff sich in dem Molecül der Cholsäure und der durch Oxydation aus ihr entstehenden Dehydrocholsäure und Biliansäure befindet, hat Mylius[1]) Untersuchungen angestellt und gefunden, dass die Cholsäure $C_{24}H_{40}O_5$ drei Hydroxyle und ein Carboxyl, die Dehydrocholsäure $C_{24}H_{34}O_5$ zwei Aldehyd-, eine Keton- und eine Carboxylgruppe, die Biliansäure $C_{24}H_{34}O_8$ zwei Ketonsauerstoffe und drei Carboxyle enthält. Aus diesen Annahmen folgt, dass der Stammkohlenwasserstoff der Cholsäure $C_{24}H_{42}$ drei Methylgruppen enthält und um acht Wasserstoffatome weniger, als ein Grenzkohlenwasserstoff mit gleich vielen Kohlenstoffatomen. Es muss daher die Cholsäure entweder ringförmige Complexe oder vier doppelte (beziehungsweise eine oder zwei dreifache) Bindungen enthalten. Mylius[2]), der ein sehr zersetzliches Additionsproduct der Cholsäure, von der muthmasslichen Zusammensetzung $C_{24}H_{40}O_5 + HCl$, durch Einleiten von Chlorwasserstoff in die essigsaure Lösung der Cholsäure darstellte, hält das Vorhandensein von Ringbindungen für unwahrscheinlich, weil: «. . . . die Cholsäure

---

[1]) F. Mylius, Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch., 20, S. 1968.

[2]) F. Mylius, Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch., 19, S. 2003.

bei der Oxydation leicht völlig zerstört wird; festere, beständige Gruppen würden zu Zwischenproducten Veranlassung geben». Diese Beweisführung kann schon wegen der Existenz eben sehr leicht spaltbarer ringförmiger Verbindungen nicht acceptirt werden. Es war daher Veranlassung gegeben, durch die Prüfung des Verhaltens der Cholsäure und ihrer Derivate gegen Halogene nach neuen Anhaltspunkten zu suchen. Durch Einwirkung von Brom und Wasser auf Cholsäure erhielt Lassar-Cohn[1]) Dehydrocholsäure. Ich habe das Verhalten der in Eisessig gelösten Cholsäure, Dehydrocholsäure und Biliansäure gegen Brom untersucht und dabei gefunden, dass diese Substanzen schon bei gewöhnlicher Temperatur von Brom angegriffen werden; es wurde unter diesen Bedingungen kein Additionsproduct erhalten.

Auf trockene Cholsäure wirken Bromdämpfe unter weitgehender Zersetzung ein. Fügt man zu einer Lösung von einem Moleculargewicht Cholsäure in Eisessig etwas weniger als ein Moleculargewicht Brom, so entfärbt sich die Flüssigkeit allmälig und ist nach etwa einer Stunde nur mehr schwach gelb; aus der Lösung entwickelt sich Bromwasserstoff.

Monobromdehydrocholsäure.

Dehydrocholsäure wurde nach Hammarsten[2]) dargestellt; nach dem Umkrystallisiren aus Aceton hatte sie die richtige Zusammensetzung.

	Berechnet für $C_{24}H_{34}O_5$:	Gefunden:
C	71,64	71,76
H	8,45	8,66

Werden von dieser Säure 6 gr. in 240 cbcm Eisessig gelöst und in einem verschliessbaren Gefäss mit 2,4 gr. reinem, trockenem Brom versetzt, so bleibt das Gemenge eine bis mehrere Stunden lang unverändert; dann beginnt die Reaction und rasch verschwindet die Farbe des Broms vollständig.

[1]) Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch., 25, S. 803.
[2]) Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch., 14, S. 71.

Giesst man jetzt zu der bromwasserstoffhaltigen Flüssigkeit Ligroin, so fällt ein Körper in mikroskopischen Nadeln aus.

Die Substanz ist in Benzol, Aceton, Eisessig, Alkohol löslich. Aus diesem letzteren Lösungsmittel erhält man beim Erkalten der heissgesättigten Lösung kleine oktaëdrische Krystalle. Dieses Verhalten kann ganz wohl zur Erkennung der Dehydrocholsäure benutzt werden. Zur Reinigung wurde die Säure mehrmals aus Benzol umkrystallisirt und theils in wohl ausgebildeten kurzen Prismen, theils als Filzwerk feiner Nadeln erhalten. Nach mechanischer Trennung der verschieden aussehenden Krystalle wurde aus Aceton umkrystallisirt und es schieden sich aus der Lösung der nadelförmigen Krystalle wieder Nadeln ab (A), während die Lösung der prismatischen Krystalle ein Gemenge von kleinen Nadeln mit kleinen oktaëderähnlichen Krystallen lieferte (B). Schmp. von A 171—173°, unter Zersetzung und Gasentwicklung, wurde durch nochmaliges Umkrystallisiren aus Aceton nicht mehr erhöht. Schmp. von B 160—163°.

	Berechnet für $C_{24}H_{33}O_5Br$:	Gefunden: A.	B.
C	59,87	59,61	59,90
H	6,86	6,96	6,93
Br	16,63	16,56	—

Ob B mit einer isomeren oder einer anderen Substanz verunreinigt war, bleibt unentschieden. Der Körper ist demnach Monobromdehydrocholsäure. Gegen Alkalien ist diese Verbindung sehr unbeständig; sie wird beim Erwärmen mit essigsaurem Natron und Eisessig sowie von Soda in der Kälte unter Gelbfärbung und Bildung von Bromwasserstoff zersetzt. Die Säure lässt sich leicht weiter bromiren. Durch Einwirkung von einem Moleculargewicht Brom auf ein Moleculargewicht in Eisessig gelöster Monobromdehydrocholsäure wurde eine Substanz erhalten, die aus Benzol in strahligen Rosetten krystallisirt. Der Dehydrocholsäureäthylester verhält sich gegen Brom ganz analog der Säure selbst und liefert ein aus Alkohol in oktaëderähnlichen Krystallen sich abscheidendes Product.

Bromirung der Biliansäure.

Biliansäure wurde nach dem Verfahren von Mylius[1]) dargestellt. Das zum Nachweis der Identität analysirte Silbersalz enthielt:

	Berechnet:	Gefunden:
Ag	42,02 %	41,40 %

Versetzt man die Lösung dieser Säure in Eisessig mit der äquivalenten Menge Brom, so dauert es einige Tage, bis die Einwirkung beginnt; dann erfolgt bald Entfärbung. Die Flüssigkeit, die beim Oeffnen des Gefässes deutlich rauchte, wurde mit einer Lösung von salpetersaurem Silber in mässig verdünnter Essigsäure versetzt und auf diese Weise wurden 43 % vom verwendeten Brom als Bromsilber abgeschieden. Es handelt sich also auch hier um einen Substitutionsvorgang.

Cholsäure und rauchende Salpetersäure.

In 20 Theile gut gekühlte rauchende Salpetersäure vom spec. Gew. 1,47 wird allmälig 1 Theil Cholsäure eingetragen. Nachdem Alles gelöst ist, wird die Flüssigkeit in Eiswasser gegossen und über Nacht im Eiskasten stehen gelassen; es scheidet sich das Oxydationsproduct in mikroskopischen Nädelchen ab. Der entstandene Körper zeigt die Löslichkeitsverhältnisse der Dehydrocholsäure, gibt wie diese mit Hydroxylamin ein Oxim, mit Brom eine aus Alkohol in Oktaëdern krystallisirende, bromhaltige Substanz und verhält sich gegen alkalisches Diazobenzol ebenso wie Dehydrocholsäure. Bringt man nämlich eine Lösung von Dehydrocholsäure in kohlensaurem Natron mit alkalischem Diazobenzol zusammen, so färbt sich die Probe intensiv roth und Salzsäure erzeugt in derselben eine rothe Fällung. Diese Reaction bleibt aus, wenn man sie mit Cholsäure oder Biliansäure anzustellen versucht.

Eine Bestimmung der Gefrierpunktdepression in Eisessig ergab mir, wie schon Abel[2]), auf die einfache Formel $C_{24}H_{40}O_5$ der Cholsäure stimmende Zahlen.

[1]) L. c.

[2]) Monatshefte 11.

Ueber die specifische Drehung des Fibrinogens.

Von

Dr. F. Mittelbach, Assistent.

(Aus dem medicinisch-chemischen Institute der k. k. deutschen Universität in Prag.)

(Der Redaction zugegangen am 26. Februar 1894.)

Die von Herrmann[1]) unternommenen Versuche zur Bestimmung der specifischen Drehung des Fibrinogens hatten in Folge unzulänglicher Methoden zur Herstellung spontan nicht gerinnender Fibrinogenlösungen zu keinem verlässlichen Resultate geführt. Nachdem aber Arthus in der Entkalkung ein Mittel kennen gelehrt hat, das Blut flüssig zu erhalten, war die Möglichkeit geboten, die Versuche zur Bestimmung der specifischen Drehung des Fibrinogens mit mehr Aussicht auf Erfolg wieder aufzunehmen.

Als Material zur Darstellung des Fibrinogens verwendete ich Pferdeblut, deshalb, weil sich in ihm die Blutkörperchen schnell und vollkommen senken und so leicht grössere Mengen Blutplasma gewonnen werden können. Zur Entkalkung des Blutes habe ich sowohl Fluorkalium als auch Kaliumoxalat verwendet und zwar, der grösseren Sicherheit wegen, in etwas grösserer Menge, als nach Arthus zur Verhinderung der Gerinnung erforderlich ist.

Die Herstellung des Plasma geschah in folgender Weise. Eine oder mehrere Flaschen zu je 10 Liter Rauminhalt wurden mit der auf je 6 bis 8 Liter Blut gerechneten, in ca. 300 cbcm.

---

[1]) Herrmann, diese Zeitschrift, Bd. 11, S. 519.

Wasser gelösten Menge des Oxalats resp. Fluorids beschickt, das Blut direkt aus dem Blutgefässe portionsweise in die Flasche gebracht und durch kräftiges Schütteln mit der Entkalkungsflüssigkeit innig gemischt. In Folge des durch das Schütteln erzeugten dichten Schaumes gelingt es nur, die Flasche etwas mehr als zu zwei Dritteln zu füllen. Nach kaum einer halben Stunde haben sich die Blutkörperchen abgesetzt, über ihnen steht das stark gelb gefärbte Plasma, das nun sofort abgehebert und verwendet werden kann. Niemals trat eine auch nur schwache Gerinnung ein.

Zur Reindarstellung von Fibrinogenlösungen nun habe ich mich der Hammarsten'schen Aussalzungsmethode bedient, jedoch nicht ohne dieselbe, wenn auch nur in unwesentlichen Punkten, mit Rücksicht theils auf die wirkliche Reindarstellung, theils auf die Schnelligkeit der Darstellung zu modificiren.

Hammarsten hat bekanntlich seine Fibrinogenlösungen sowohl durch ganze Sättigung als auch halbe Sättigung des durch bestimmte Mengen Steinsalz oder Magnesiumsulfatlösung ungerinnbar gemachten Plasmas mit Steinsalz und Wiederauflösung des durch die Sättigung gefällten Fibrinogens gewonnen.

Ich habe beide Methoden angewendet. Allein bei der vollständigen Sättigung des Plasmas habe ich zuletzt nur sehr schwache Fibrinogenlösungen erhalten; sie drehten im Zweidecimeterrohr nur 0,1° oder etwas darüber. Ausserdem beanspruchte die völlige Sättigung des Plasmas und die wiederholte Sättigung der rohen Fibrinogenlösung viel Zeit, auch wenn die Lösung des Salzes in gelinder Wärme vorgenommen wurde.

Man sieht überdem bei diesen Sättigungsversuchen, dass die Ausscheidung des Fibrinogens vollendet ist, lang bevor sich alles zur Sättigung nöthige Salz in der Flüssigkeit gelöst hat und dass somit eine vollständige Sättigung überflüssig ist. Aus diesem Grunde habe ich es vorgezogen, das Fibrinogen nur durch halbe Sättigung mit Kochsalz (Steinsalz) abzuscheiden, obwohl dabei ein Verlust von Fibrinogen stattfindet.

Vorerst jedoch untersuchte ich das Verhalten meines Plasmas zu gesättigter Steinsalz- und Bittersalzlösung in jenen Mengen, in denen sie Hammarsten verwendet, um das Plasma ungerinnbar zu machen. Auf Zusatz von $^1/_3$ Vol. gesättigter Steinsalz- oder $^1/_4$ Vol. gesättigter Magnesiumsulfatlösung zeigte sich die befremdende Erscheinung, dass die Flüssigkeit Gerinnsel vom Ansehen und der Consistenz einer Fibringallerte abschied. Die gleiche Beschaffenheit hatte übrigens auch der durch vollständiges Sättigen des Plasmas mit Steinsalz gewonnene Niederschlag dargeboten. In der Befürchtung, dass die Entkalkung des Plasmas eine unvollkommene gewesen sein und dasselbe statt Fibrinogen Fibrin abgeschieden haben mochte, wurde dem Plasma vor dem Salzzusatz nochmals Fluorkaliumlösung in reichlicher Menge hinzugefügt, ohne dass aber der Salzniederschlag andere Eigenschaften dargeboten hätte, als vorher. Das Gerinnsel durfte also schon aus diesem Grunde für Fibrinogen angesehen werden. Zusatz von $^1/_3$ Vol. Wasser veränderte das Plasma nicht.

Nachdem diese Erfahrungen gemacht worden waren, wurde eine grössere Menge von Fluorkaliumplasma mit demselben Vol. gesättigter Steinsalzlösung versetzt, also zur Hälfte gesättigt. Das entstandene Gerinnsel bildete wie in den obigen Versuchen eine zähe Gallerte, welche sich sofort nach dem Eingiessen der Salzlösung zeigte und das ganze Gefäss erfüllte. Wurde beim Eingiessen tüchtig gerührt, so schieden sich nur gelblichweise zwar gelatinöse, jedoch solide, gut begrenzte Flocken aus, welche sich sehr bald von selbst zu einem auf der Oberfläche schwimmenden Kuchen zusammenklumpten. Dieser löste sich in schwacher Salzlösung auf, war also nicht Fibrin, sondern wie auch seine sonstigen Reactionen noch beweisen, Fibrinogen.

Wiederholt man dieses Verfahren, Fällen in halbgesättigter Lösung und Lösen in circa 6procentiger Salzlösung, so bemerkt man zunächst, dass das gefällte Fibrinogen immer schwerer löslich wird, eine Beobachtung, die bereits Alexander Schmidt machte. Dadurch wird es erklärlich, dass die letzte nach dreimaliger Fällung gewonnene Lösung stets sehr

eiweissarm und damit sowohl zur Eiweissbestimmung wie zur Polarisation nicht sehr tauglich ist. Lösungen von mehr als 0,2% Eiweissgehalt habe ich auf diese Weise niemals erhalten.

Nach Hammarsten wird die Abnahme der Löslichkeit des Fibrinogens durch das lange Verweilen desselben in reinem Wasser bedingt. Diesen schädigenden Einfluss des Wassers schloss Hammarsten dadurch aus, dass er das Fibrinogen schnell abfiltrirte und das abgepresste und zerschnittene Filter wieder mit schwacher Salzlösung behandelte. Mir schien es aber, dass man noch einfacher und schneller das angestrebte Ziel erreichen könne. Denn das Filtriren durch nur ein einziges Filter nimmt lange Zeit in Anspruch und beim Benutzen mehrerer Filter beeinträchtigt das massenhafte Papier die Beurtheilung der vollständigen Lösung sehr. Die Eigenschaft des gefällten Fibrinogens, sich zu einem Klumpen zusammen zu ballen, gestattet vielmehr eine direkte Entfernung des Fibrinogens aus der Flüssigkeit.

Bei der Darstellung des Fibrinogens bin ich nun in folgender Weise zu Werke gegangen.

In das entkalkte Plasma wird das gleiche Vol. gesättigter Steinsalzlösung unter fortwährendem Umrühren eingegossen; das Umrühren wird so lange fortgesetzt, bis sich deutlich begrenzte Flocken abscheiden. Lässt man dann noch einige Minuten stehen, so ballt sich das gefällte Fibrinogen zusammen und schwimmt als zusammenhängende Schichte auf der Oberfläche, welche man ohne grossen Verlust und Mühe mit der Hand herausfischen kann. Der gallertige Niederschlag wird nun zwischen den Fingern durchgepresst und sofort wieder in 2—3proc. Steinsalzlösung unter fleissigem Rühren zur Lösung gebracht. Das Durchpressen bietet dabei nicht blos den Vortheil, dass das Präcipitat sehr flüssigkeitsarm wird, sondern namentlich auch den, dass der ganze Klumpen in erbsen- bis bohnengrosse Stückchen zerquetscht wird, wovon wesentlich das Gelingen der Lösung abhängt. Diese kleinen Klümpchen, welche sehr consistent sind, ballen sich in der Salzlösung nicht mehr zusammen, sie quellen vielmehr auf, werden wieder gallertig, an ihrer Oberfläche erscheinen Luftblasen, ihre

Contouren werden verschwommen, und in einer bis drei Viertelstunden ist man bei fleissigem Umrühren im Stande, Alles in Lösung zu bringen. Hierauf wird die Lösung in ein anderes Becherglas übergegossen, wo bei nur einiger Vorsicht sowohl Schaum als etwa ungelöste kleine Klümpchen zurückbleiben; es wird dadurch ein zeitraubendes Filtriren überflüssig. Diese Lösung wird wieder halb mit Steinsalz gesättigt und so das ganze Verfahren dreimal wiederholt, bis die letzte Lösung, welche man auch, wenn nöthig, zuletzt noch filtriren kann, nur mehr reines Fibrinogen enthält.

Die Menge des auf diese Weise gewonnenen Fibrinogens ist zwar auch keine übermässig grosse, aber mit Rücksicht auf die Schnelligkeit und Leichtigkeit der Darstellung eine ganz befriedigende. Lösungen mit mehr als 0,5 % Fibrinogen habe ich jedoch auch bei diesem Verfahren nicht erhalten, allerdings auch nicht zu erhalten gesucht, da schon Lösungen von der angegebenen Concentration wegen ihrer schon beträchtlichen Opalescenz oder Trübung zur Polarisation nicht mehr sehr geeignet sind.

Aus dieser Art der Darstellung geht schon hervor, dass der erhaltene Körper nichts Anderes sein kann als Fibrinogen. Doch habe ich es nicht unterlassen, seine übrigen Eigenschaften zu ermitteln, einerseits um durch eine Vergleichung mit dem Hammarsten'schen Fibrinogen den Beweis für die Identität mit diesem zu vervollständigen, andererseits aber auch um die Reinheit der Substanz zu erweisen.

Der Körper bildet mit schwachen Steinsalzlösungen eine zähflüssige, fadenziehende Flüssigkeit, in den meisten Fällen von schwacher aber deutlich alkalischer Reaction. Die Flüssigkeit zeigt schwache Opalescenz bei mässiger Trübung, welch letztere nach dem Filtriren durch dichtes Filtrirpapier bedeutend schwächer wird, wobei sich aber, wie polarimetrisch festgestellt wurde, der Gehalt an Eiweiss zugleich auch vermindert. Diese Lösung gerinnt für sich trotz tagelangen Stehens bei Zimmertemperatur nicht, sie gerinnt aber stets mit Blutserum, nicht sofort, sondern im Verlauf von 1 bis 2 Stunden zu einer festen Gallerte. Mit einer Spur löslichen Kalksalzes

($CaCl_2$) konnte nur in einem Falle eine zweifellose Gerinnung nachgewiesen werden. Diese Fibrinogenlösungen werden durch Sättigen mit Steinsalz vollkommen enteiweisst, ihre Gerinnungstemperatur liegt bei 56° C. Die Substanz besitzt also alle Eigenschaften des reinen Fibrinogens nach Hammarsten.

Ausserdem aber habe ich noch folgende Wahrnehmungen bei meinen Versuchen gemacht.

Es schien mir wünschenswerth, zu erfahren, wieviel Fibrinogen durch wirklich halbe Sättigung gefällt wird und ob man durch Vermehrung der zugesetzten Salzlösung nicht eine vollkommene Fällung erzielen könnte. Zu diesem Behufe versetzte ich 4 gleiche genau gemessene Volumina der Fibrinogenlösung — mit ungefähr 0,2 % Fibrinogen und 1 % Steinsalz — der Reihe nach mit 1, 2, 3 und 4 Vol. gesättigter Steinsalzlösung, schüttelte gut um, liess etwa eine halbe Stunde stehen und filtrirte. Die Filtrate waren sämmtlich klar. Die zur Hälfte mit Salz gesättigte Lösung gab mit Essigsäure allein, sowie mit Essigsäure und Ferrocyankalium eine bedeutende Trübung, die zu $^2/_3$ gesättigte Lösung gab mit Essigsäure und Ferrocyankalium eine zwar schwache, aber deutliche Trübung. In den zwei anderen Proben liess sich auch in einem mehr als doppelt so weiten Glas mit Essigsäure allein keine, mit Essigsäure und Ferrocyankalium nur eine an der Grenze der Wahrnehmbarkeit stehende Trübung nachweisen, die Biuretprobe blieb negativ.

Demzufolge kann man wohl die Prüfung auf Reinheit des Präparates auch so vornehmen, dass man 1 Vol. der Fibrinogenlösung mit 3 bis 4 Vol. gesättigter Steinsalzlösung versetzt und eine Zeit lang stehen lässt, wobei eine reine Fibrinogenlösung vollständig gefällt wird. Davon habe ich bei der Untersuchung meiner Lösung Gebrauch gemacht.

Vergleichshalber habe ich auch das Verhalten zu Ammonsulfat untersucht und konnte bei halber Sättigung mit demselben im Filtrate Eiweiss mit Sicherheit nicht mehr nachweisen.

Bei geringem Zusatz von Essigsäure zu der alkalischen Lösung in Steinsalz wird Fibrinogen gefällt, löst sich im Ueberschuss der Säure zur vollkommen klaren Flüssigkeit auf und kann daraus mit kohlensaurem Natrium leicht wieder

gefällt werden. Mischt man die Säure vorsichtig zu, ohne zu schütteln, so erhält man ein gelatinöses Gerinnsel, ähnlich dem durch Salzfällung entstehenden.

Einmal jedoch habe ich ein ganz eigenthümliches Verhalten beobachtet. Durch Zusatz von einigen Tropfen 50proc. Essigsäure zu einer circa 2 % Steinsalz enthaltenden ca. 0,5 proc. Fibrinogenlösung bekam ich zunächst das beschriebene Gerinnsel, welches sich im Ueberschuss der Säure klar löste; wenige Minuten später war jedoch die Gallerte wieder entstanden, welche sich leicht zerschütteln liess, also Fibrin gewiss nicht war. Später beobachtete ich dies nicht mehr, vielleicht weil ich 0,5 proc. Lösungen nicht mehr verwendete.

In Bezug auf die Hitzecoagulation habe ich folgende nur zum Theil mit den Angaben Hammarsten's übereinstimmende Wahrnehmungen gemacht.

Bei schnellem Erhitzen, wie man es erzielt, wenn man das die Fibrinogenlösung enthaltende Reagensglas in auf 56° C erhitztes Wasser bringt, tritt bei Lösungen von 0.1—0.5 % Fibrinogen in 1—2 procentiger Salzlösung die erste Trübung bei 53° auf und die Coagulation ist bei 56° vollendet. Eine flockige Fällung erhält man nur dann, wenn man bei der angegebenen Temperatur einmal kräftig mit dem Thermometer umrührt, sonst nur ein zähes, ziemlich homogenes Coagulum. Filtrirt man die Flüssigkeit vom Coagulum ab und erhitzt nochmals, so bekommt man, falls man vorher genügend lange erhitzt hat, — $^1/_4$ bis $^1/_2$ Stunde — bei nochmaligem Erhitzen auf 56° keine weitere Trübung. Untersucht man jedoch das Filtrat mit Essigsäure und Ferrocyankalium oder stellt die Biuretprobe an, so kann man in jedem Falle noch in Lösung befindliches Eiweiss nachweisen.

Hammarsten hat nun beobachtet, dass dieser in Lösung bleibende Eiweisskörper ein sich bei der Hitzecoagulation vom Fibrinogen abspaltendes, bei 65° C gerinnendes Globulin darstellt. Dazu muss ich bemerken, dass ich eine Coagulation des Filtrates nach der Coagulation bei 56°, so oft ich auch die Versuche in Ansehung der Resultate eines so ausgezeichneten Beobachters wie Hammarsten mit peinlichster Vermeidung aller möglichen Fehler, wiederholte, bei 65° eine Coagulation in dem Maasse niemals beobachtet

habe, wo nach Hammarsten's Bestimmungen beiläufig ein Drittel der ursprünglichen Fibrinogenmenge den bei 56° noch löslichen Eiweisskörper ausmacht. Ich bekam zwar ab und zu mit Fibrinogenlösungen bei über 60° ganz zarte Trübungen, aber dann auch jedesmal im Filtrat nochmals solche bei über 70°, was ich dann besser auf Beimengung von Albumin und Globulin als auf das Spaltungsprodukt des Fibrinogens beziehen zu sollen glaubte; die bei weitem grösste Zahl meiner Fibrinogenlösungen zeigte eine Trübung oder gar Coagulation in Flocken bei 65° überhaupt nicht, obwohl sie sonst alle von Hammarsten angeführten Eigenschaften des reinen Fibrinogens besassen.

Dass die Coagulation bei 56° keine vollständige ist, kann nicht auffallen, da ja die reinen Fibrinogenlösungen, wenn auch nur schwach, so doch deutlich alkalisch sind; beim Erhitzen auf 56° muss nun in dem Maasse, als Fibrinogen coagulirt, der in Lösung bleibende Theil relativ alkalischer werden und allmälig in Albuminat übergehen, welches bei grosser Concentration der Eiweisslösung wohl eine Trübung, niemals aber eine wirkliche Coagulation mit Flockenbildung geben kann. Dass dieser lösliche Eiweissrest in meinen Fibrinogenlösungen in der That Fibrinogen ist, lässt sich unschwer erweisen.

Ausgehend von der Annahme, dass eine vollständige Fällung in der Hitze durch die Alkalescenz der Lösung verhindert wird, habe ich versucht, durch Neutralisation mit Säure eine vollständige Coagulation in der Wärme zu erzielen. Ich verwendete dazu Essigsäure von beiläufig 0,5 %. Bei Verbrauch von nur 1 oder 2 Tropfen dieser verdünnten Säure für 50 cbcm. der Fibrinogenlösung, bleibt nach halbstündigem Erhitzen auf 56° entweder gar kein Eiweiss oder doch nur eine Spur in Lösung, jedenfalls aber viel weniger, als in einer nicht angesäuerten Probe derselben Fibrinogenlösung, wie ich mich aus dem Vergleich mit solchen unter denselben Umständen erhitzten Proben überzeugt habe.

Dass es bei der groben Art, wie der Versuch angestellt wurde, nicht in jedem Falle gelingt, alles Fibrinogen durch Säurezusatz zu coaguliren, ist begreiflich, da es sehr

schwer ist, so kleinen Flüssigkeitsmengen mit minimalem Alkaligehalt die richtige saure Reaction zu ertheilen. Uebrigens bedarf es eines bedeutenden Ueberschusses an Essigsäure, um die Hitzecoagulation zu verhindern, d. h., das Fibrinogen in Acidalbumin überzuführen.

Eine deutliche Spaltung des Fibrinogens bei der Coagulation habe ich also nicht wahrgenommen und meine Beobachtung steht also in diesem Punkte in Widerspruch mit der von Hammarsten.

Ich bin derzeit nicht im Stande, davon eine erschöpfende Erklärung zu geben. Nachdem meine Fibrinogenlösungen überhaupt nur einen Coagulationspunkt zeigen, so kann man an der Reinheit des isolirten Eiweisskörpers nicht mehr zweifeln. Es ist nun Zweierlei möglich: entweder ist das nach der Methode Hammarsten dargestellte Fibrinogen ein anderes, woran man bei der grossen Veränderlichkeit des Fibrinogens stets denken muss, oder ist das vom genannten Autor dargestellte Fibrinogen kein homogener Eiweisskörper. Indessen ist eine andere Möglichkeit auch nicht vollkommen ausgeschlossen. Ich nahm bei meinen Coagulationsversuchen meist Lösungen von 0,2 – 0,5%, Hammarsten dagegen verwendete nach seiner Methode gewonnene Lösungen von 2—5%. Es wäre nun immerhin denkbar, dass mir bei der starken Verdünnung eine Coagulation bei 65° entgangen sein konnte, die Hammarsten bei seinen zehnfach stärkeren Lösungen beobachtete.

Aus der bisher gegebenen Schilderung der Eigenschaften meines Präparates geht nun wenigstens soviel hervor, dass das Fibrinogen den zur Bestimmung der specifischen Drehung erforderlichen Grad der Reinheit besitzt. Herrmann's Bestimmung kann dagegen insofern nicht befriedigen, als sie, abgesehen davon, dass sie sich nur auf eine einmalige Beobachtung bezieht, mit einem Produkt ausgeführt wurde, welches bei Temperaturen über 70° noch eine deutliche Trübung zeigte, also nicht rein war.

Zu meinen Bestimmungen der spez. Drehung dienten stets frisch bereitete Lösungen, von denen jede vorerst genau auf ihre Eigenschaften und ihre Reinheit geprüft wurde.

Der Drehungswinkel wurde im Zweidecimeterrohr mittelst eines Polarimeters von Lippich bestimmt, welches eine Ablesung von noch 0,005° gestattet. Dann wurde der Gehalt der Lösung an organischer Substanz ermittelt. Dazu wurden zunächst 50—100 cbcm. der Lösung im Trockengläschen im Luftbad unterhalb 100° C eingedampft und darauf der Rückstand bei 120° bis zur Gewichtsconstanz getrocknet. Von derselben Lösung dienten 10—20 cbcm. zur Aschebestimmung; die Flüssigkeit wurde im Platintiegel in einer Lieben'schen Muffel zur Trockene verdampft, der Rückstand vorsichtig verkohlt, die Asche erst mit heissem Wasser ausgelaugt, dann weiss gebrannt und auf ihr der wässrige Auszug eingedampft. Der Tiegel mit der Asche wurde dann noch über der Flamme erhitzt, doch so, dass der Boden des Tiegels kaum roth wurde. Vom Gewichte der Trockensubstanz wurde das der Asche abgezogen. Alle diese Wägungsbestimmungen wurden paarweise vorgenommen.

In der folgenden Tabelle gebe ich das Gewicht der Trockensubstanz für 100 cbcm., das der Asche für 10 cbcm. und den Drehungswinkel für das Eindecimeterrohr.

	Rückstand.	Asche.	Eiweiss in 100 cbcm.	α_D	$[\alpha]_D$
1.	2,7852 2,7812	0,2237 0,2265	0,5322	— 0,28675°	— 53,9°
2.	2,7003 2,7014	0,2412 0,2407	0,2914	— 0,1575°	— 54,1°
3.	1,4300 1,4302	0,1145 0,1138	0,2886	— 0.14875°	— 51,5°
4.	1,2498 1,2498	0,1047 0,1043	0,2048	— 0,1037°	— 50,6°

Das Mittel sämmtlicher Bestimmungen beträgt — 52,5°. Die nicht geringen Abweichungen der einzelnen Werthe von einander erklären sich wohl zur Genüge aus der nur geringen Concentration der Fibrinogenlösungen.

Zum Schlusse spreche ich meinem verehrten Chef, Hrn. Prof. Huppert, nicht blos für die Anregung sondern auch für das werkthätige Interesse, mit dem er die Arbeit verfolgt hat, meinen besten Dank aus.

Zur Frage des krystallisirten und aschefreien Albumins.

Erklärung

Von

Prof. **Erich Harnack.**

(Der Redaction zugegangen am 5. März 1894.)

Die in Band XIX, Heft 1, dieser Zeitschrift veröffentlichte Arbeit der Herren Bondzynski und Zoja (über die fractionirte Krystallisation des Eieralbumins) enthält auf S. 11, Anm. 1, den folgenden Satz:

«Wenn es noch eines Beweises bedürfte, um die gegen die Hofmeister'schen Krystalle von Harnack erhobenen Vorwürfe zu widerlegen, so lässt sich derselbe dieser Tabelle entnehmen, wo aus dem Eiweiss- und Ammoniumsulfatgehalte sich das Mengenverhältniss derselben in den Krystallen leicht ergibt».

Diesem Satze liegt augenscheinlich ein Missverständniss zu Grunde. Es ist mir nie in den Sinn gekommen, gegen die Hofmeister'schen Krystalle Vorwürfe zu erheben. Ich habe im Gegentheil in allen meinen bezüglichen Publikationen immer wieder auf Hofmeister's Resultate verwiesen. Zugleich aber habe ich die Thatsache mitgetheilt, dass es mir mit dem aschefreien Albumin zwar gelungen ist, krystallisirte Verbindungen mit schwefelsaurem Ammon zu erhalten, dass dieselben aber sehr eiweiss-

arm und ammoniakreich waren[1]). Das involvirt doch weder einen Vorwurf noch einen Zweifel gegenüber Hofmeister's Resultaten! Die von mir beobachtete Thatsache habe ich zwar bisher nicht zu erklären vermocht, ich hoffe aber, dass es mir gelingen wird, wenn mir meine Zeit erst wieder erlauben wird, meine Eiweissstudien fortzusetzen. Die Herren Bondzyński und Zoja sind ja auch zum Theil zu anderen Ergebnissen wie Hofmeister gelangt, obschon sie gleich ihm vom aschehaltigen Albumin ausgingen, und haben z. B. in ihren Krystallen einen nicht unbedeutenden Kalkphosphatgehalt gefunden.

Darin stimme ich den beiden Herren vollkommen bei, dass bei der von mir benutzten Methode der Herstellung aschefreien Albumins das Kalkphosphat augenscheinlich abgespalten wird und dass das Eiweiss an das letztere chemisch gebunden ist. Ich gelange mehr und mehr zu der Ueberzeugung, dass dies für alle sogenannten anorganischen Elemente gilt, welche nach der landläufigen Bezeichnung die «Asche» unserer Nährstoffe zusammensetzen.

---

[1]) Vgl. Berichte der deutsch. chem. Gesellsch. XXIII, 1890, S. 3748. Der betreffende Passus meiner Publikation enthält einen überaus unangenehmen Druckfehler, indem einmal statt «Aether» das Wort «Chlor» gesetzt ist.

Ueber Diamidopropionsäure.

Von

Dr. Ernst Klebs.

(Aus dem physiologisch-chemischen Institute zu Tübingen.)

Inauguraldissertation der naturwissenschaftlichen Facultät zu Tübingen am 7. Februar 1894 vorgelegt.

(Der Redaction zugegangen am 8. März 1894.)

Unter den Zersetzungsproducten der Eiweisskörper sind in letzterer Zeit Amidosäuren gefunden worden, welche der Reihe der Diamidofettsäuren angehören, also nach der allgemeinen Formel: $C_n H_{2n-2}(NH_2)_2 O_2$ zusammengesetzt sind.

Drechsel[1]) fand nach der von ihm modificirten Methode von Hlasiwetz und Habermann unter den Spaltungsproducten des Caseïns das Lysin, $C_6H_{14}N_2O_2$, welches er als eine Diamidocapronsäure auffasst, und die Diamidoessigsäure[2]). Das Lysin wurde von Drechsel's Schülern: E. Fischer[3]) nach der erwähnten Methode auch aus Leim, von M. Siegfried[4]) ebenfalls aus pflanzlichem Eiweiss, nämlich aus Conglutin, erhalten; ferner wies S. Hedin[5]) nach, dass Lysin auch bei der pankreatischen Verdauung von Fibrin in erheblicher Menge abgespalten wird.

Schon in früherer Zeit war von Jaffé[6]) zum ersten Male ein Vertreter der Diamidofettsäuren in dem Ornithin entdeckt worden, welches derselbe als ein Dibenzoylderivat, die sogenannte Ornithursäure, aus dem Harn und den Exkrementen von Hühnern isolirte, die mit Benzoësäure gemischtes Futter erhalten hatten. Die Ornithursäure liess sich mit Salz-

1) Arch. f. (Anat. u.) Phys. 1891, III. u. IV. H., S. 248.
2) Ber. d. math.-physik. Kl. d. Kgl. Sächs. Ges. d. Wiss. 1892, S. 116 u. f.
3) Arch. f. (Anat. u.) Physiol. III. u. IV. H., S. 265.
4) » » » » » » S. 270.
5) » » » » » » S. 273.
6) Berl. Ber. X, 1925, XI, 406.

säure in 2 Moleküle Benzoësäure und in Ornithin, $C_5H_{12}N_2O_2$, spalten, eine Verbindung, welche ebenso wie Lysin mit Säuren 2 Reihen von Salzen lieferte, sowie Silberoxyd und Kupferoxyd auflöste. In Folge dieses Verhaltens und seiner Zusammensetzung konnte das Ornithin als eine Diamidovaleriansäure $C_5H_8(NH_2)O_2$ angesehen werden.

So sind nun 3 Vertreter der Diamidofettsäuren als Spaltungsproducte von Eiweisskörpern erhalten worden; denn, dass auch Ornithin ein Abkömmling derselben ist und in einem analogen Verhältniss zur Ornithursäure steht, wie das Glycocoll zur Hippursäure, kann wohl nicht zweifelhaft sein.

Auf synthetischem Wege war bisher kein Glied dieser, von der Theorie vorausgesehenen, Reihe von Verbindungen dargestellt worden. Es erschien daher als eine Aufgabe von physiologischem, wie rein chemischem Interesse, die künstliche Synthese derselben zu versuchen. Herr Professor Hüfner veranlasste mich, eine dahinzielende Arbeit in Angriff zu nehmen, um einen Beitrag zur Kenntniss der ganzen Gruppe zu liefern und der physiologisch-chemischen Analyse entgegenzukommen.

Meine Versuche richteten sich zunächst auf den Aufbau des Anfangsgliedes der ganzen Reihe, der Diamidoessigsäure, welche insofern gegenüber den beiden anderen, bisher noch bekannten Diamidosäuren, eine besondere Stellung einnimmt, als sie die 2 Amidogruppen, an ein einziges Kohlenstoffatom gebunden, enthalten muss; bei dem Lysin und Ornithin ist die Bindung der letzteren durch verschiedene Kohlenstoffatome als sehr wahrscheinlich anzunehmen.

Mehrere zur Synthese von Diamidoessigsäure angestellte Versuche waren nicht von Erfolg begleitet; die zu diesem Zwecke eingeschlagenen Wege sollen nachfolgend kurz erwähnt werden.

Versuche zur Synthese von Diamidoessigsäure.

Zunächst wurde eine directe Methode versucht in der Einwirkung von Ammoniak auf dihalogensubstituirte Essigsäure, beziehungsweise deren Ester.

Als Ausgangsmaterial diente Dichloressigsäure, Dichloressigester und Dibromessigester. Der Letztere wurde in der Absicht angewendet, um, entsprechend der leichteren Austauschbarkeit des Broms, mit einer möglichst niederen Reactionstemperatur auszukommen. Den Dibromessigsäureäthylester habe ich zuerst nach einer von Remy[1]) angegebenen Vorschrift, welche sich an eine Wallach'sche Methode zur Gewinnung von Dichloressigester anlehnt, dargestellt, durch Einwirkung von Cyankalium auf eine alkoholische Lösung von Bromalhydrat. Da die Ausbeute eine wenig befriedigende war, nur etwa 33 % der theoretischen, versuchte ich später eine andere von Wallach[2]) als beste zur Gewinnung von Dichloressigester empfohlene Methode, die, soweit meine Literaturkenntnisse reichen, bei dem Dibromessigester bisher noch nicht angewendet worden ist und daher nachfolgend beschrieben werden möge.

Bromalhydrat lässt sich durch Digeriren mit concentrirter Blausäure leicht in das Bromalcyanhydrat umwandeln. Löst man Letzteres in kaltem, absolutem Alkohol und trägt allmälig auf 1 Mol. Bromalcyanhydrat 1 Mol. entwässertes, fein pulverisirtes Natriumacetat ein, so vollzieht sich unter Erwärmung und heftigem Aufschäumen der Flüssigkeit, in Folge der entweichenden Blausäure, auch hier der von Wallach entdeckte, merkwürdige Process in fast quantitativer Weise. Die ganze Reaction verläuft im Sinne der folgenden Gleichung:

$$CBr_3 - CH\begin{matrix} \diagup (CN) \\ \\ \diagdown (OH) \end{matrix} + C_2H_5.OH. + NaC_2H_3O_2 =$$

$$CHBr_2 - COOC_2H_5 + HCN + C_2H_4O_2 + NaBr.$$

Die Ausbeute an Dibromessigester entspricht nahezu der theoretisch verlangten und wird nur durch die Reinigungsprocesse etwas verringert.

Die Einwirkung von Ammoniak auf die erwähnten Dihalogenverbindungen wurde zuerst in Form einer alkoholi-

---

[1]) Beilstein.

[2]) Ber. d. deutsch. chem. Ges, X, 2122.

schen Lösung versucht. Später bediente ich mich ausschliesslich einer concentrirten, wässerigen Lösung, nachdem deren Verwendung zur erfolgreichen Synthese von Diamidopropionsäure geführt hatte.

Je 10 gr. der Ester oder 8 gr. der Dichloressigsäure wurden mit 50 cbcm. 10proc. alkoholischen Ammoniaks, beziehungsweise mit 40—50 gr. einer 37—40proc. wässerigen Ammoniaklösung in geschlossenen Glasröhren im Schiessofen erhitzt. Anfänglich hielt ich die Temperatur des Schiessofens 6 Stunden bei 140—150° und zwar bei Anwendung von alkoholischem Ammoniak. Es zeigte sich indess, dass alsdann reichlich kohlensaures Ammoniak entstand, mithin eine völlige Spaltung des Dichloressigesters eintrat. In späteren Fällen wurde 6 Stunden auf 110—120°, einige Male 12—24 Stunden bei 60—80° erhitzt.

Der dunkelbraun gefärbte Inhalt der Röhren wurde mit einem Ueberschuss von Bleihydroxyd im Wasserbade so lange behandelt, bis das Aufhören der Ammoniakreaction die völlige Zerstörung des entstandenen Salmiaks bewies. Der Bleiniederschlag wurde wiederholt mit warmem Wasser ausgezogen, dann mittelst der Saugpumpe möglichst von Flüssigkeit befreit. Aus den vereinigten, filtrirten Auszügen entfernte ich mit Schwefelwasserstoff das mitgelöste Blei und dampfte das Filtrat bis zur Syrupsdicke ein. Es hinterblieb so eine geringe Menge eines gelb- bis braungefärbten Syrups von stark alkalischer Reaction.

Dieser Syrup zeigte das gleiche allgemeine Verhalten, ob nun Dichloressigsäure, deren Ester, oder Dibromessigester, alkoholisches oder wässeriges Ammoniak angewendet worden war. Er hatte, selbst nach wochen- und monatelangem Stehen im Exsikkator oder im Eisschrank, keine Neigung zu krystallisiren; es kam nur zur Bildung einer glasigen, amorphen Masse, welche, aus dem Exsikkator an die Luft gebracht, schnell zerfloss. In Alkohol und Aether war der Syrup unlöslich; diese beiden Lösungsmittel schieden aus der wässerigen Lösung zähe, schmierige Massen ab, welche auch nach längerem Stehen nicht krystallinisch wurden. Verschiedene Versuche

mit Säuren oder Basen aus dem Syrup analysirbare Körper zu gewinnen, blieben erfolglos. Ein Zusatz von Salzsäure veranlasste neben geringer Entwickelung von Gas, welches sich als Kohlensäure deuten liess, reichliche Bildung von Salmiak. Frisch bereitetes Kupferhydroxyd löste sich nur in dem Falle in geringer Menge, wenn Dichloressigsäure das Ausgangsmaterial gebildet hatte. Ein so erhaltenes Kupfersalz erwies sich nach der Analyse als Glycocollkupfer und verdankte seine Bildung vermuthlich einer Verunreinigung der Dichloressigsäure mit Monochloressigsäure.

Ein anderer Weg, um zur Diamidoessigsäure zu gelangen, wurde in der nachfolgend angegebenen Methode beschritten.

Reduction von Formazylcarbonsäureäthylester.

Bamberger und v. Pechmann haben bekanntlich, durch Einwirkung von Diazobenzolchlorid auf gewisse Carbonylverbindungen der Fettreihe, gemischte Azo-Hydrazokörper erhalten. Unter den letzteren ist auch ein Derivat der Essigsäure, die Formazylcarbonsäure[1]), sowie deren Aethylester[2]) dargestellt worden und leicht zugänglich. Nach der Darstellungsart von Bamberger gewinnt man durch allmäligen Zusatz von 2 Mol. Diazobenzolchlorid auf eine alkalische, eiskalt gehaltene Lösung von 1 Mol. Acetessigester, den Formazylcarbonsäureäthylester in guter, der folgenden Gleichung entsprechenden Ausbeute:

$$CH_3 - CO - CH_2 - COOC_2H_5 + 2\,(C_6H_5.N = N.OH) =$$

$$\begin{matrix} C_6H_5.N = N \\ C_6H_5.HN - N \end{matrix} \Big\rangle C - COOC_2H_5 + H_2O + CH_3 - COOH.$$

Eine Reduction dieses Formazylesters wurde in der Hoffnung versucht, unter Spaltung der beiden gegenseitigen Stickstoffbindungen, ein Verbleiben der beiden an Kohlenstoff gebundenen Stickstoffatome im Moleküle der Essigsäure zu

---

[1]) v. Pechmann, Ber. d. d. chem. Ges., XXV, 3183.

[2]) E. Bamberger, Ber. d. d. chem. Ges., XXV. 3202.

erreichen, wie es die folgende theoretische Gleichung veranschaulicht:

$$\begin{matrix} C_6H_5.\ N = N \\ C_6H_5.HN - N \end{matrix} \Big\rangle C - COOC_2H_5 + 8\,H =$$

$$CH\begin{matrix} \diagup NH_2 \\ \\ \diagdown NH_2 \end{matrix} - COOC_2H_5 + 2\,C_6H_5.NH_2.$$

Von dem, nach der angegebenen Vorschrift hergestellten, schön krystallisirten Formazylester, dessen Reinheit durch eine Stickstoffbestimmung und den Schmelzpunkt nachgewiesen war, wurden 20 gr. in absolutem Alkohol gelöst und nun zu der im Wasserbade erwärmten Lösung etwas mehr als die berechnete Menge metallischen Natriums in kleinen Portionen hinzugegeben. Nach dem Aufhören der Wasserstoffentwickelung neutralisirte ich die Lösung mit Salzsäure soweit, dass noch eine schwach alkalische Reaction vorwaltete, und destillirte den Alkohol ab. Das Destillat hatte Geruch nach Anilin und gab auch die dem letzteren zukommende charakteristische, purpurviolette Färbung mit Chlorkalklösung. Die von Alkohol befreite, rückständige Lösung wurde nun eingedampft und von dem auskrystallisirten Chlornatrium soweit als möglich durch Filtration getrennt. Nachdem sie verdünnt und mit Natronlauge deutlich alkalisch gemacht worden war, wurde sie im Wasserdampfstrom destillirt, um Anilin zu entfernen. Dabei zeigte sich, dass nicht nur Anilin im Destillate auftrat, sondern auch freies Ammoniak. Eine weitere Verarbeitung der restirenden Flüssigkeit ergab nichts Positives mehr. Die Reduction des Formazylesters war demnach wahrscheinlich unter Bildung und Abspaltung von Anilin, sowie eines leicht zersetzlichen amidinartigen Körpers vor sich gegangen.

Einwirkung von Quecksilberacetamid auf Dijodessigester.

Die hier zu erwähnende Methode sollte auf indirectem Wege zur Diamidoessigsäure führen.

Der Ausgangspunkt war die Idee, dass eine der Acetursäure analoge Verbindung zu gewinnen versucht wurde. Die

Acetursäure zerfällt bekanntlich leicht durch Einwirkung von Säuren oder Alkalien in Glycocoll und Essigsäure entsprechend der folgenden Gleichung:

$$\underset{\displaystyle C_2H_3O_2}{CH_2.NH} - COOH + H_2O = CH_2.NH_2 - COOH + C_2H_4O_2.$$

Durch Wechselwirkung zwischen einem Metallsalz des Acetamids und dihalogensubstituirter Essigsäure hoffte ich zu einem Diacetylderivat der Diamidoessigsäure und damit zu der letzteren selbst zu gelangen.

Leicht zugänglich ist das von Strecker[1]) gefundene Quecksilbersalz des Acetamids, welches für den vorliegenden Zweck geeignet erschien, da man in demselben eine directe Bindung des Quecksilberatoms an Stickstoff:

$$CH_3 - \underset{\displaystyle O}{C} - \underset{\displaystyle H}{N} - Hg - \underset{\displaystyle H}{N} - \underset{\displaystyle O}{C} - CH_3$$

vorzugsweise annimmt.

In der Absicht, die Reaction schon bei möglichst niederer Temperatur eintreten zu lassen, stellte ich Dijodessigester[2]) aus Jodkalium und Dibromessigester dar. Die Gewichtsmengen von Quecksilberacetamid und Dijoessigester wurden entsprechend der folgenden Gleichung genommen:

$$CHJ_2 - COOC_2H_5 + Hg(C_2H_3ONH)_2 =$$
$$CH(NH.C_2H_3O)_2 - COOC_2H_5 + HgJ_2.$$

Zu einer Lösung von 28 gr. Dijodessigester in dem 2fachen Volum 95proc. Alkohols wurde eine wässerig-alkoholische Auflösung von 25 gr. Quecksilberacetamid auf einmal hinzugegeben. Es entstand ein zuerst weisser, dann schnell gelb werdender Niederschlag. Die Mischung wurde noch $^1/_2$ Stunde im Wasserbade gelinde erwärmt; dabei schien sich der Niederschlag noch etwas zu vermehren und eine dunklere Färbung anzunehmen.

Der amorphe, schwere, hellgelb aussehende Bodensatz wurde von der klaren, überstehenden Flüssigkeit durch

---

[1]) Ann. d. Chem. u. Ph. 103, 321.

[2]) Ann. d. Chem. u. Ph. 231, 273.

Filtration getrennt. Eine qualitative Prüfung desselben, wie eine Quecksilberbestimmung erwies, dass die Substanz fast reines Quecksilberjoduer war.

0,385 gr. der bei 100° getrockneten Substanz gaben 0,2649 gr. HgS = 59,50 % Hg; HgJ enthält 61,10 % Hg.

Die Menge des Joduers entsprach annähernd $^2/_3$ des gesammten, im verwendeten Quecksilberacetamid enthaltenen Quecksilbers.

Das wässerig-alkoholische Filtrat liess nach dem Erkalten gelbe, glänzende Krystalle von der rhombischen Form des Quecksilberjodides ausfallen; dass sie in der That nichts Anderes waren, bewies der bald erfolgende Uebergang derselben in die schön rothe, quadratische Oktaëderform. Die Flüssigkeit wurde durch Destillation vom Alkohol befreit und schied in Folge dessen noch mehr Quecksilberjodid aus. Die Gesammtmenge an Jodid entsprach ungefähr einem Drittel des ganzen zur Anwendung gekommenen Quecksilbers.

Die zuletzt restirende, wässerige Mutterlauge wurde eingedampft und gab einen in spiessigen Nadeln krystallisirenden Syrup. Diese Krystalle erwiesen sich als frei von Quecksilber und leicht löslich sowohl in Wasser, wie in Alkohol. Da sich dieselben nicht völlig trocknen liessen, wurde versucht, sie durch Umkrystallisiren zu reinigen. Bei dem Lösen in Wasser und Abdampfen schieden sie in sehr geringer Menge ein schwer lösliches Salz ab. Die Hauptmenge ergab wieder sehr hygroskopische Nadeln, die, auch nach wiederholtem Umkrystallisiren, nicht in einen analysenfähigen Zustand übergeführt werden konnten. Eine qualitative Prüfung zeigte, dass jene Substanz mit Natronlauge bereits in der Kälte reichlich Ammoniak entwickelte, sowie dass nach Zusatz von Salzsäure und Eisenchlorid eine braunrothe Färbung auftrat.

Soviel war demnach als sicher anzusehen, dass das gewünschte Diacetamid-Derivat der Essigsäure, mit direkter Bindung von Stickstoff an Kohlenstoff, nicht entstanden war. Wenn die erwähnte organische Substanz ein derartiges Derivat vorstellte, konnte sie den Acetamidrest nur durch Vermittelung von Sauerstoff gebunden enthalten.

Diamidopropionsäure.

Neben den bisher geschilderten Versuchen zur Synthese von Diamidoessigsäure wurden andere unternommen, welche zu der nächsten, homologen Säure, der Diamidopropionsäure, zu führen bestimmt waren.

Von den verschiedenen, möglichen Isomeren nahm ich zunächst diejenige in Aussicht, welche die beiden Amidogruppen, an verschiedene Kohlenstoffatome gebunden, enthalten musste.

Als Ausgangsmaterial diente α-β-Dibrompropylalkohol, $CH_2Br — CHBr — CH_2.OH$, welchen ich nach den Angaben von Muender und Tollens[1]) darstellte.

In eine umgekehrte Glasglocke wurde Allylalkohol gegeben, der sich auf dem Boden ausbreitete; über denselben kam auf einen gläsernen Dreifuss eine flache Schale zu stehen, welche die berechnete Menge Brom enthielt. Die Glasglocke wurde in kaltes Wasser eingesetzt und, mit einer Glasscheibe bedeckt, an einem dunkelen Orte 2—3 Tage sich selbst überlassen. Nach dieser Zeit war alles Brom verschwunden, und am Boden der Glasglocke befand sich nun eine gelb- bis braungefärbte Flüssigkeit. Dieselbe wurde mit Wasser mehrmals gewaschen, sodann aus einem auf 250° erhitzten Oelbade im Wasserdampfstrome destillirt und nachher rectificirt.

Dieser Alkohol wurde nach der Methode von Muender und Tollens[2]) in Dibrompropionsäure übergeführt; derselben entsprechend werden je 50 gr. des Alkohols mit 70 gr. einer Salpetersäure vom spec. Gew. 1,4 und 30 gr. rauchender Salpetersäure oxydirt. Wagner und Tollens[3]) empfehlen ein mehrstündiges Erwärmen der Mischung auf 30—40° und dann, unter allmäliger Steigerung der Temperatur, ein 6stündiges Erhitzen auf 100°; so erhielten sie 64,6 % der theoretisch möglichen Ausbeute an einer durch Umkrystallisiren gereinigten Säure. Das gleiche Verfahren benutzte ich mit der Abänderung, dass die erwähnte Mischung in einer Retorte, welche im Wasserbade stand und deren Hals lose in eine Vorlage hineinführte, 18—24 Stunden constant bei 35° gehalten

[1]) Ann. d. Chem. u. Ph. 167, 224.
[2]) Ann. d. Chem. u. Ph. 167, 222.
[3]) Ann. d. Chem. u. Ph. 171, 341.

und nachher nur noch eine Stunde auf 100° erhitzt wurde. Den Inhalt der Retorte befreite ich nach beendigter Oxydation durch Abdampfen, unter öfterer Zugabe von Wasser, von Salpetersäure. Nach dem Erkalten erstarrte der Rückstand zu einem gelblichen Krystallkuchen; dieser liefert, wenn er zerkleinert in einen porösen Thonteller ausgebreitet wird, im Verlaufe von 1—2 Tagen rein weisse, trockene Krystalle der Dibrompropionsäure. Dieselben enthalten noch Spuren von Oxalsäure, welche indess bei der beabsichtigten Verwendung unberücksichtigt bleiben konnten.

Aus 200 gr. Dibrompropylalkohol wurden nach diesem Verfahren 180 gr. Dibrompropionsäure = 84,5% der theoretischen Ausbeute erhalten. Ohne bemerkbare Nachtheile liess sich auch eine grössere Menge Alkohol, nämlich 100 gr., auf einmal oxydiren.

Zur Einführung der Amidogruppe wurde die directe Einwirkung von Ammoniak versucht.

Wir verdanken Kraut[1]) den Nachweis der grossen Bedeutung, welche die Benutzung eines erheblichen Ueberschusses von Ammoniak für die Darstellung primärer Amidoverbindungen besitzt. Kraut zeigte, dass, bei Anwendung von nur 2—3 Molekülen Ammoniak auf 1 Mol. Aethylenchlorid, also einer, der theoretischen Gleichung: $CH_2Cl - CH_2Cl + 2\ NH_3 = (CH_2.NH_2 - CH_2.NH_2).(HCl)_2$ entsprechenden Menge, vorwiegend secundäre und tertiäre Aminbasen gebildet werden, während Aethylendiamin nur zu etwa 5% der verlangten Ausbeute entsteht. Dagegen stieg die letztere auf 95%, als 18 Mol NH_3 mit 1 Mol. $CH_2Cl - CH_2Cl$ in Reaction traten. Aehnliche Verhältnisse wies Kraut auch für die Bildung von Glycocoll[2]) aus Monochloressigsäure und Ammoniak nach. Bezüglich der Einwirkung von NH_3 auf halogensubstituirte Verbindungen der Fettreihe ist ferner bekannt, dass es unter Umständen, wie jedes kräftige Alkali, aus denselben Halogenwasserstoff abspaltet und sie in ungesättigte Verbindungen umwandelt. Die letzteren gehen unter fortgesetztem Einfluss

[1]) Ann. d. Chem. u. Ph. 212, 251.

[2]) Ann. d. Chem. u. Ph. 266, 292.

des Alkalis, je nachdem eine wässerige oder alkoholische Lösung desselben angewendet wird, unter Aufnahme von Hydroxyl oder Aethoxyl wieder relativ leicht in gesättigte Verbindungen über. Namentlich verdünnte Lösungen von Ammoniak wirken, analog K.HO oder Na.HO, in der bezeichneten Richtung. Als Heintz[1]) α-Chlor-Propionsäure mit wässerigem Ammoniak in offener Schale kochte, erhielt er nur wenig Alanin, dagegen hauptsächlich Milchsäure. Der Einfluss des Ammoniaks war, trotz grösserer chemischer Activität, gegenüber der Massenwirkung des Wassers ein zu geringer, um eine Substitution durch die Amidogruppen bewirken zu können.

Diese Erwägungen liessen es zweckmässig erscheinen, um in der α-β-Dibrompropionsäure eine Substitution der Halogenatome durch primäre Amidoreste zu erzielen, einen grossen Ueberschuss in Form einer concentrirten Lösung anzuwenden.

Durch Einleiten von Ammoniakgas in eine 25procentige, wässerige Lösung desselben, welche in Eiswasser stand, konnte eine 37—40proc. Ammoniakflüssigkeit erhalten werden. Je 50—60 gr. derselben, entsprechend 18—24 gr. reinem Ammoniak, wurden mit 10 gr. Dibrompropionsäure in Glasröhren eingeschmolzen. Nach Massgabe der theoretischen Gleichung:

$$CH_2Br - CHBr - COOH + 5\,NH_3 =$$
$$CH_2.NH_2 - CH.NH_2 - COOH.NH_3 + 2\,NH_3.HBr$$

würden für 10 gr. der Säure bereits 3,66 gr. Ammoniak genügen. In der verwendeten Mischung kamen auf je ein Halogenatom etwa 10 Mol. NH_3, auf 1 Mol. Dibrompropionsäure 20 Mol. desselben.

Die beschickten Glasröhren, welche im Schiessofen bei den meisten Versuchen 6 Stunden auf 100—110° erhitzt wurden, lieferten nach dem Oeffnen eine klare, gelbe Flüssigkeit, die man zunächst durch Abdampfen vom ungebundenen Ammoniak befreite. In Folge des Einengens schied sich ein gelbgefärbtes Salz aus, welches nach dem Kaltstellen der

[1]) Ann. d. Ch. u. Ph., 156, 27.

Flüssigkeit und Zusatz von Alkohol noch reichlicher auskrystallisirte. Das erhaltene Salz ist das

Bromhydrat der Diamidopropionsäure.

$(CH_2.NH_2 - CH.NH_2 - COOH)H.Br.$

Eine qualitative Prüfung dieser Substanz deutete auf eine Bromwasserstoffverbindung, da sie mit Silbernitrat schon in der Kälte reichlich Bromsilber erzeugte. Mit verdünnter Natronlauge gab eine Lösung des Salzes weder kalt, noch beim Erwärmen freies Ammoniak ab; demnach konnte ein Ammoniumsalz oder Amid nicht mehr vorliegen.

Die quantitative Analyse hatte folgendes Ergebniss. Die lufttrockene Substanz verlor im Exsikkator nur sehr wenig an Gewicht; bei 100° getrocknet nahmen 1,2969 gr. nur 0,0047 gr. ab = 0,003 %. Das Salz war demnach krystallwasserfrei.

Die nachstehend angeführten Bestimmungen wurden mit der bei 100° getrockneten Substanz ausgeführt.

I. 0,5492 gr. gaben 0,3943 gr. CO_2 und 0,2508 gr. H_2O.
II. 0,5367 » » 0,3909 » » » 0,2443 » »
III. 0,4892 » » 0,3575 » » » 0,2231 » »
IV. 0,3952 » » 53,6 cbcm. N bei 20° C. und 733 mm. Hg.
V. 0,1548 » » 20,2 » » » 10° » » 739 » »
VI. 0,5135 » » 0,519 gr. } AgBr.
VII. 0,4553 » » 0,4593 » } AgBr.

Für $C_3H_9N_2O_2Br$										
Berechnet:		Gefunden:								
		I.	II.	III.	IV.	V.	VI.	VII.	im Mittel.
C % . .	19,45	19,58	19,85	19,92	=	—	—	—	19,78
H % . .	4,87	5,05	5,05	5,07	—	—	—	—	5,06
N % . .	15,17	—	—	—	14,95	15,18	—	—	15,07
Br % .	43,20	—	—	—	—	—	43,02	42,93	42,97
O % . .	17,29	—	—	—	—	aus d. Diff. =			17,12
In Sum.	99,98	—	—	—	—	—	—	—	100,00

Nach dem Ergebniss der Analysen, der Bildungsweise und dem qualitativen Verhalten ist die Substanz charakterisirt als das Bromhydrat einer α-β-Diamidopropionsäure $(CH_2.NH_2 - CH.NH_2 - COOH).HBr$.

In dem Reactionsgemisch, welches die Röhren nach dem Erhitzen enthalten, scheint bereits ein Theil der entstandenen Diamidosäure als Bromhydrat enthalten zu sein, da eine Probe des Röhreninhaltes, unmittelbar nach dem Oeffnen entnommen, schon die charakteristischen Drusen jener Substanz zeigt.

Der grössere Theil der Diamidosäure entzieht wahrscheinlich während des Eindampfens dem Bromammonium den Bromwasserstoff, indem jene, wie eine fixe Base sich verhaltend, die flüchtige verdrängt.

Wird nämlich der Röhreninhalt bis zur völligen Trockne eingedampft, so bleibt die Reaction des restirenden Salzgemenges stark alkalisch, wie es der freien Diamidosäure zukommt. Rührt man das Ganze mit Wasser an und erwärmt von Neuem, so dauert eine langsame Entwickelung von Ammoniak fort, selbst nach Wiederholung dieses Verfahrens. Eine später mit reiner Diamidopropionsäure und Salmiaklösung angestellte Probe zeigte gleichfalls nach kurzem Erwärmen Auftreten von freiem Ammoniak.

Die Umwandlung der letzten Reste der freien Diamidosäure in das Bromhydrat geht nur langsam vor sich. Es empfiehlt sich daher zur schnelleren Erzielung einer möglichst vollständigen Ausbeute, das nur einmal eingetrocknete Salzgemenge mit wenig mehr als derjenigen Menge Wasser anzurühren, welche zum Lösen des theoretisch gebildeten (vgl. unten) Bromammoniums erforderlich ist; dann füge man HBr bis zur schwach saueren Reaction und etwa ein halbes Volum Alkohol hinzu. Letzterer bewirkt eine vollkommenere Abscheidung des gewünschten Bromhydrates; aber in dieser Verdünnung kaum oder nur eine sehr geringe von Ammoniumbromid. Durch Umkrystallisiren aus heissem Wasser, in welchem das Bromhydrat leicht löslich ist, kann es gut gereinigt werden.

Die Reaction zwischen Ammoniak und Dibrompropionsäure entspricht unter den angegebenen Bedingungen annähernd folgender Gleichung:

$$CH_2Br - CHBr - COOH + 20\,NH_3 =$$
$$(CH_2.NH_2 - CH.NH_2 - CO_2H).HBr + NH_3.HBr + 17\,NH_3.$$

Aus 23,2 gr. Dibrompropionsäure sollten demnach 18,5 gr. Bromhydrat der Diamidopropionsäure und 9,8 gr. Ammoniumbromid entstehen; die durchschnittliche Ausbeute an ersterem entsprach 40—50 % der so verlangten. Aus 60 gr. Dibrompropionsäure konnten in den günstigsten Fällen 26—28 gr. des gewünschten Productes erhalten werden.

Mehrfache Versuche durch Variation der Temperatur, der Concentration und der Menge des verwendeten Ammoniaks, die Ausbeute zu verbessern, führten zu den folgenden Ergebnissen:

1. 60 gr. Dibrompropionsäure wurden mit 180 gr. 38 proc. und 130 gr. 25 proc. Ammoniaklösung in einer kleinen Champagnerflasche 11 Stunden in ein Wasserbad mit der constanten Temperatur von 60° gelegt; auf je 10 gr. Säure kamen nahezu 17 gr. Ammoniak (berechn. s. ob.: 3,66 gr. NH_3). Die Ausbeute an Bromhydrat betrug nur 11,6 gr. = 25 % der verlangten.
2. 30 gr. der Säure wurden mit 180 gr. der käuflichen 25 proc. Ammoniaklösung in geschlossenen Röhren 6 Stunden bei 100° gehalten; auf je 10 gr. der Säure kamen etwa 15 gr. NH_3. Die Ausbeute war 7 gr. Bromhydrat = 29 % der theoretischen.
3. 30 gr. der Säure mit 180 gr. einer unmittelbar vor dem Einschluss kalt gesättigten Ammoniaklösung von etwa 37 % lieferten, 6 Stunden bei 100—110° erhitzt, 14 gr. Bromhydrat = 58 % der möglichen Ausbeute. Auf je 10 gr. der Säure wirkten etwa 18 gr. NH_3 ein.
4. Von derselben Ammonlösung, welche einige Tage in verschlossener Flasche aufbewahrt worden war, gaben 180 gr. mit 31 gr. Säure unter gleichen Umständen 13 gr. Bromhydrat = 54 % der verlangten Ausbeute.

Eine Steigerung der Temperatur bis auf 140° hatte keine Vortheile gegenüber derjenigen von 100—110°, wenn auch keine bemerkbaren Nachtheile.

Im Allgemeinen war also ein grosser Ueberschuss von Ammoniak, hoher Druck und eine Temperatur von 100° von günstigem Einfluss auf die Bildung der Diamidopropionsäure, ferner aber auch die Concentration, also der Partiardruck des Ammoniaks, mit dessen Zunahme auch die Ausbeute stieg.

Andere Producte der Reaction, insbesondere Milchsäure oder Glycerinsäure aufzufinden, ist bei einem dazu angestellten Versuche nicht gelungen. Die nach Abscheidung des Brom-

hydrates der Diamidopropionsäure hinterbliebene Lösung wurde mit Salzsäure stark angesäuert und zur völligen Trockne eingedampft. Das so erhaltene Salzgemenge behandelte ich mit 95proc. Alkohol, welcher damit einen Tag unter zeitweisem Umschütteln in Berührung blieb. Der alkoholische Auszug hinterliess nach dem Verdunsten nur eine geringe Menge von Ammoniumbromid, aber keinen syrupösen Rückstand.

Eigenschaften des Bromhydrates der Diamidopropionsäure.

Das Bromhydrat ist in reinem Zustande ein weisses, krystallinisches Pulver, ohne Gehalt an Krystallwasser. Es ist nicht hygroskopisch und bleibt bei längerer Aufbewahrung unverändert. Bei rascher Ausscheidung aus wässeriger Lösung bildet es nieren- und halbmondförmige Drusen, die aus sehr kleinen Nädelchen zusammengesetzt sind, von denen häufig je zwei Doppeldrusen bilden; oder es entstehen blattartige an Salmiak erinnernde Wachsthumsformen. Erfolgt langsame Krystallbildung, so kommen längere Nadeln und Säulen vor. Das Salz bräunt sich, im Capillarröhrchen erhitzt, bei 225° und schmilzt unter Zersetzung bei 228—230°.

Ein Theil des Salzes verlangt 12,5 Theile Wasser von 20° zur Lösung.

Von einer Lösung, welche durch 24stündige Einwirkung von Wasser auf einen Ueberschuss des Salzes unter öfterem Umrühren bei 20° erhalten wurde, hinterliessen 1,538 gr., bei 105 gr. getrocknet, 0,1164 gr. Substanz.

Die Reaction der wässerigen Lösung auf Lakmus ist schwach sauer. In starkem Alkohol ist das Salz unlöslich; wenige Tropfen desselben veranlassen in einer concentrirten, wässerigen Lösung Trübung und Ausscheidung von Krystallen. In heissem, sowie in HBr- oder HCl-haltigem Wasser ist die Substanz erheblich leichter, als in kaltem Wasser, löslich.

Das Bromhydrat bildete den Ausgangspunkt für die Gewinnung der reinen Diamidopropionsäure und der anderen, nachstehend beschriebenen Körper.

Chlorhydrat der Diamidopropionsäure.

$(CH_2.NH_2 - CH.NH_2 - COOH).HCl$.

Zu dessen Darstellung wurde die Lösung des Bromhydrates mit einem Ueberschuss von Bleihydroxyd einige Zeit erwärmt, um Brom zu entfernen. Irgendwelches Entweichen von Ammoniak fand hierbei nicht statt. Das Filtrat wurde mit H_2S von Blei befreit, mit HCl schwach angesäuert und eingedampft.

In der Kälte und nach Zusatz von Alkohol krystallisirt das Chlorhydrat als weisses, krystallinisches Pulver aus.

Das Salz ist wie das Bromhydrat frei von Krystallwasser. Die Analyse der bei 105° getrockneten Substanz lieferte folgende Resultate:

I. 0,3023 gr. gaben 0,285 gr. CO_2 und 0,1849 gr. H_2O.
II. 0,2064 » » 37,6 cbcm. N bei 18,5° C. und 729,5 mm. Hg.
III. 0.3297 » » 0,3358 gr. AgCl.

	Für $C_3H_9N_2O_2Cl$ berechnet:		Gefunden:
C %	25,61		25,71
H %	6,41		6,79
N %	19,98		20,12
Cl %	25,22		25,18
O %	22,76	aus d. Diff.	22,20
	99,98		100,00

Das Chlorhydrat ist in der Krystallform dem Bromhydrat sehr ähnlich; auch in seinem Lösungsvermögen gleicht es dem letzteren.

Von einer bei 20° gesättigten, wässerigen Lösung hinterliessen 0,7342 gr. bei 100° getrocknet 0,0566 gr. Substanz; somit braucht ein Theil des Salzes 11,57 Theile Wasser von 20° zur Lösung.

Gegen Alkohol verhält es sich, wie das Bromhydrat. Das Chlorhydrat bräunt sich, im Capillarröhrchen erhitzt, bei 220° und schmilzt unter Zersetzung bei 225°.

Wie das Bromhydrat ist auch das Chlorhydrat in salzsäurehaltigem Wasser bedeutend leichter löslich, als in reinem Wasser. Dieser Umstand sowohl wie die Thatsachen, dass Lysin und Ornithin mit Säuren 2 Reihen von Salzen liefern, veranlasste die folgenden Versuche.

Etwa 0,6 gr. des Chlorhydrates wurden in überschüssiger 30proc. Salzsäure gelöst und auf dem Wasserbade bei gelinder Wärme concentrirt, sodann mit Alkohol versetzt. Es schied sich zunächst ein zäher Syrup aus, der nach einigen Stunden krystallisirte. Von den bei 105° getrockneten Krystallen, die wie Monochlorhydrat aussehen, gaben 0,2897 gr. an Chlorsilber: 0,2928 gr.; demnach waren sie unverändertes Monochlorhydrat:

	Für $(C_3H_8N_2O_2).HCl$ berechnet:	Gefunden:
Cl %	25,22	24,99

In einem anderen Versuche wurden 1,5 gr. des Bromhydrates mit etwas Wasser und 1,5 gr. einer 40proc. Bromwasserstoffsäure bis zur Lösung gelinde erwärmt, alsdann der freiwilligen Krystallisation überlassen. Die Analyse der so erhaltenen Krystalle ergab, dass auch in diesem Falle nur ein Monobromhydrat wieder ausgeschieden war: 0,4553 gr. lieferten 0,4593 gr. Bromsilber = 42,93 % Brom; verlangt wird für $(C_3H_8N_2O_2)HBr$: 43,20 % Br. Eine wesentliche Abnahme des Salzes während des Trocknens bei 100, welche auf Verlust von HBr zu deuten gewesen wäre, trat nicht ein.

Die Diamidopropionsäure besitzt sonach keine Neigung, sich, wie Lysin und Ornithin, als mehrsäurige Base zu verhalten, wie dies auch die anderen, noch zu erwähnenden Salze offenbaren werden. Es wird am Schlusse der Arbeit Gelegenheit sein, noch einmal auf diesen Umstand zurückzukommen.

Das Chlorhydrat diente zur Darstellung der reinen

Diamidopropionsäure.

$$CH_2.NH_2 - CH.NH_2 - COOH.$$

Bei der Gewinnung des Chlorhydrates war beobachtet worden, dass die Lösung der freien Diamidosäure[1]), wenn sie

[1]) Auf diese auch von Drechsel am Lysin beobachtete Erscheinung habe ich in der vorläuf. Mitth. Ber. d. d. chem. G. XXVI, S. 2267, bereits aufmerksam gemacht; die daselbst gleichfalls mitgetheilte, auf Zusatz von Salzsäure erfolgende Bildung von Salmiak habe ich indesen bei wiederholten Versuchen nicht wieder beobachten können.

in offener Schale bis zum Syrup eingedampft wurde, auf Zusatz von Säuren mii Aufbrauchen reagirte. Es war die Vermuthung begründet, dass die stark alkalisch reagirende Flüssigkeit sich auch insofern einer kräftigen Base ähnlich verhielt, als sie, in freier Berührung mit der Atmosphäre, aus derselben Kohlensäure fixirte. Zur Darstellung einer chemisch reinen Diamidosäure musste daher der Einfluss der Kohlensäure möglichst ausgeschlossen bleiben.

Eine grössere Portion des Chlorhydrates wurde mit etwas mehr als der berechneten Menge Silberoxyd, welches ich allmälig der heissen Lösung zugab, zerlegt. Das mit Schwefelwasserstoff von Silber befreite, helle und klare Filtrat unterwarf ich, um es zu concentriren, der Destillation im luftverdünnten Raume. Der benutzte Apparat entsprach dem von Lassar-Cohn (Arbeitsmethode, I. Aufl., S. 22) angegebenen Modell. Während der Destillation wurde mittelst einer feinen Capillare ein Luftstrom eingeleitet, welcher von Kohlensäure und Wasser befreit worden war, indem er vor dem Eintritt in die destillirende Flüssigkeit zwei mit Schwefelsäure gefüllte Flaschen und zwei mit Natronkalk beschickte Thürme passiren musste. Der trockene Luftstrom vermittelte eine ruhigere Destillation; diese erfolgte aus dem Wasserbade bei einem durchschnittlichen Drucke von 100 mm. Hg und einer Temperatur von 80—90°. Nachdem die Lösung der Diamidosäure bis zu einem dünnen Syrup concentrirt war, liess ich sie im kohlensäurefreien Luftstrom erkalten. Der Syrup wurde filtrirt, dann in einem evacuirten Exsikkator neben Schwefelsäure der freiwilligen Krystallisation überlassen. Nach wenigen Tagen war ein fester, nahezu farbloser, strahlig krystallinischer Kuchen entstanden. In Berührung mit der atmosphärischen Luft zogen die Krystalle schnell Feuchtigkeit an, wurden weich und zerflossen nach einigen Tagen. Versuche, die Substanz im Luftbad bei 100° zu trocknen, gelangen nicht. Die Krystalle erweichten bei 80—90° und gingen schliesslich in eine gelb- bis braungefärbte, klebrige Masse über.

Für die Analyse konnte die Substanz in folgender Weise vorbereitet werden. Eine Portion des im Vacuum entstandenen

Krystallkuchens wurde im Achatmörser zerkleinert; zunächst gelang es nur, gröbere Fragmente und eine grössere Ausbreitung der Substanz zu erreichen, da sie während der Operation Wasser anzog und weich wurde. Der Achatmörser mit Substanz kam in den Exsikkator neben Schwefelsäure zurück und blieb, nach möglichst weit getriebener Evacuirung, mehrere Tage in dem letzteren stehen. Bei nochmaliger Herausnahme konnte nun die Substanz in ein mittelfeines, weisses Pulver zerrieben werden, da sie hart und fest geworden war und längere Zeit in diesem Zustande verblieb. Das Pulver wurde in ein engwandiges Röhrchen gefüllt und letzteres zur weiteren Austrocknung in den Exsikkator zurückgebracht, den ich von Neuem evacuirte. Um das Röhrchen zu wägen, wurde jedesmal in den Exsikkator nur ein Luftstrom eingelassen, welcher zwei mit Schwefelsäure beschickte Flaschen passirt hatte. Das Röhrchen erreichte gewöhnlich nach 3—5 Tagen constantes Gewicht. Die folgenden Analysen sind mit einer derart vorbereiteten Substanz gemacht worden. Das Zurückwägen des Röhrchens nach Entnahme der Substanz erfolgte erst nach 24stündiger Aufbewahrung in dem evacuirten Exsikkator; übrigens wurde möglichst der gesammte Inhalt des Röhrchens verwendet.

I. 0,4105 gr. gaben 0,5041 gr. CO_2 und 0,2856 gr. H_2O.
II. 0,3988 » » 0,4920 » » » 0,286 » »
III. 0,1915 » » 45,2 cbcm. N bei 15° C. und 735,5 mm. Hg.
IV. 0,1157 » » 27,6 » » » 17° » » 740 » »

Für $C_3H_8N_2O_2$:

Berechnet.		Gefunden.				$C_3H_8N_2O_2$ + 1.5% H_2O.
		I.	II.	III.	IV.	
C% . . .	34,58	33,50	33,65	—	—	34,06
H% . . .	7,69	7,72	7,96	—	—	7,75
N% . . .	26,98	—	—	26,73	26,92	26,56
O% . . .	30,74	—	—	—	—	31,63
In Summa	99,99	—	—	—	—	100,00

Die Substanz hält wahrscheinlich hartnäckig eine geringe Menge Feuchtigkeit zurück, wie aus den etwas zu klein ausgefallenen Werthen, sowohl für den Stickstoff- wie für Kohlen-

stoffgehalt hervorgeht; zum Vergleich befindet sich in der letzten Rubrik der obigen Tabelle eine Berechnung der Elementarzusammensetzung für eine Diamidopropionsäure, welche 1,5 % Wasser noch enthält.

Die grosse Hygroskopicität der Diamidosäure verhinderte auch eine exacte Bestimmung des Schmelzpunktes. Zwei Proben der ebenso wie zur Analyse vorbereiteten Substanz begannen im Capillarröhrchen bei 97° zu schmelzen; indess erst zwischen 110° und 120° waren sie völlig flüssig geworden.

Die krystallisirte Diamidopropionsäure enthält sehr wahrscheinlich kein Krystallwasser. Die Krystalle, welche dem im Vacuum entstandenen Kuchen von strahlig, krystallinischem Gefüge entnommen waren, verloren bei dem weiteren, oben geschilderten Trocknen nur etwa 1,5—2 %; ein Gehalt von ½ Mol. Krystallwasser würde bereits 7,15 % vom Gesammtgewicht entsprechen. Versuche, die Substanz bei 100—110° bis zu einem constanten Gewicht zu trocknen, verliefen ergebnisslos, da dieselbe beständig etwas abnahm und sich dabei in eine braune, blasig aufgetriebene, zähe Masse verwandelte.

Die Krystalle schienen aus Prismen zu bestehen, die in Sternform gruppirt waren; einige Male wurden hexagonale Tafeln beobachtet. Die wässerige Lösung der Diamidopropionsäure reagirt stark alkalisch; selbst in sehr verdünnten Lösungen ist diese Reaction deutlich wahrnehmbar.

Bemerkt wurde schon, dass die wässerige Lösung bei längerer Berührung mit der Atmosphäre Kohlensäure aufnimmt; doch gelang es nicht, ein festes, kohlensaures Salz zu gewinnen.

In Alkohol und Aether ist die Diamidopropionsäure ganz unlöslich. Fügt man starken Alkohol zu einer concentrirten, wässerigen Lösung der Säure, so scheidet sich die letztere als Syrup aus, der bei genügendem Ueberschuss von Alkohol nach längerem Stehen in der Kälte krystallinisch wird.

Die feste Substanz sowohl wie die wässerige Lösung zeigen einen eigenthümlichen, schwach an Leim erinnernden Geruch. Im trockenen Reagensglase erhitzt, verkohlt die Diamidosäure unter heftigem Aufblähen und Ausstossen von

Dämpfen; eine Sublimation bei vorsichtiger Erwärmung war dabei nicht erkennbar.

Um die relative Beständigkeit der Diamidopropionsäure zu prüfen, machte ich einen von Drechsel bei der Diamidoessigsäure und der Diamidocapronsäure angestellten Versuch. Im geschlossenen Rohr wurde 1 gr. des Chlorhydrates der Diamidopropionsäure mit etwa 25 cbcm. einer 30proc. Salzsäure 6 Stunden auf 120—140° erhitzt; den Röhreninhalt dampfte ich unter Zusatz von Wasser ein und vermischte den hinterbliebenen Syrup mit Alkohol. Es bildeten sich Krystalle von dem Aussehen des angewendeten Chlorhydrates, die nach dem Trocknen wieder nahezu 1 gr. wogen. Eine Chlorbestimmung derselben ergab folgendes Resultat: 0,2295 gr. lieferten 0,233 gr. AgCl = 25,11 % Cl; für $(C_3H_8N_2O_2).HCl$ werden verlangt 25,22 % Cl. Somit war unverändertes Monochlorhydrat wieder erhalten worden und der Beweis erbracht, dass die Diamidopropionsäure bei dem Erhitzen mit Salzsäure im geschlossenen Rohr auf 140° ebenso beständig ist, wie es Drechsel für das Lysin und die Diamidoessigsäure nachgewiesen hat.

Eine qualitative Prüfung der Diamidopropionsäure mit den allgemeinen Alkaloïdreagentien ergab das folgende, demjenigen der organischen, stickstoffhaltigen Basen ähnliche Verhalten. Zu den Versuchen verwendete ich eine 1 proc. wässerige Lösung, welche theilweise noch stärker verdünnt wurde.

1. Wenige Tropfen einer wässerigen Lösung von Quecksilberchlorid (1:20) erzeugen Trübung, bei vermehrtem Zusatz flockige Fällung.
2. Phosphormolybdänsäure gibt reichliche, weisse, flockige Niederschläge, selbst in noch stärker verdünnten Lösungen der Diamidosäure, als oben angegeben, welche durch verdünnte Schwefelsäure wieder leicht gelöst werden.
3. Phosphorwolframsäure verhält sich dem eben genannten Reagens ganz ähnlich; die Niederschläge sind ebenfalls in verdünnter Schwefelsäure löslich.
4. Kalium-Wismuth-Jodid erzeugt eine gelbrothe Fällung.

5. Mit Goldchlorid entsteht Fällung, auch in stärker verdünnten Lösungen.
6. Millon's Reagens erzeugt starken, weissen, flockigen Niederschlag.
7. Gerbsäure gibt nur, wenn sie in concentrirter Lösung verwendet wird, Fällung.

Eine wahrnehmbare Veränderung liess sich nicht erkennen, nach Zusatz der folgenden Reagentien: Kalium-Quecksilberjodid, Rhodankalium, Pikrinsäure und Nessler's Reagens.

Die Diamidopropionsäure geht noch eine Reihe anderer, wohl charakterisirter Verbindungen ein, die in Folgendem beschrieben werden. Es sind Verbindungen mit Basen sowohl wie mit Säuren.

Verbindungen mit Basen.

Diamidopropionsaures Kupfer.

$$(CH_2.NH_2 - CH.NH_2 - COO)_2Cu + 4\ H_2O.$$

Das Bromhydrat wurde mit Bleihydroxyd von Brom, mit Schwefelwasserstoff von Blei befreit. In der warmen Lösung der freien Diamidosäure löste sich frisch bereitetes, mittelst mehrmaligen Centrifugirens und Dekanthirens sorgfältig ausgewaschenes, Kupferoxyd leicht auf. Es entstand eine Flüssigkeit von tief dunkelblauer, mit einem Stich in das Violette gehenden Farbe. Verdünnte Lösungen zeigen ein fast reines Violett. Die Tinktionskraft des Kupfersalzes für Wasser ist eine sehr grosse; es gelang beispielweise nicht, bei dem Auswaschen des im Ueberschuss zugesetzten Kupferhydroxydes, nach mehrstündigem Aufgiesen von viel Wasser, ein vollkommen farblos ablaufendes Filtrat zu erhalten, obgleich das entstehende Kupfersalz leicht löslich ist. Die Lösung des Kupfersalzes kann auf dem Wasserbade ohne Zersetzung eingedampft werden. Der syrupöse Rückstand krystallisirt leicht nach Zusatz von Alkohol und einigem Stehen in der Kälte.

Die dunkelblauen, leicht violetten, gut ausgebildeten Krystalle gehören nach einer Bestimmung, die ich Herrn Dr. Pompeckji, Assistenten am hiesigen mineralogischen Institute, verdanke, dem monoklinen System an; zerrieben geben

dieselben ein violettes Pulver. Eine Wasserbestimmung der im Exsikkator getrockneten Substanz hatte folgendes Ergebniss:

0,3492 gr. verloren bei 105° getrocknet, nach 3 Stunden 0,0717 gr., nach 5 Stunden 0,0721 gr.; nach 10stündigem Trocknen bei 105° war keine weitere Abnahme bemerkbar, wohl aber, als dieselbe Substanz noch 1 Stunde bei 110° gehalten wurde; ein nochmaliges 5stündiges Erhitzen auf 110° veränderte das Gewicht nicht mehr. Der Gesammtverlust an Wasser war 0,0734 gr. = 21,02 %,

1,2275 gr. verloren, 2 Stunden bei 105° und 2 Stunden bei 110° getrocknet, 0,2599 gr. = 21,18 %.

Wird das Salz auf 120° erhitzt, so beginnt es sich allmälig zu schwärzen und nimmt wieder ab. Das wasserfreie Salz zieht energisch aus der Luft Wasser an; ebenso ist auch das wasserhaltige im pulverisirten Zustande hygroskopisch. Geeigneter für die Analyse erwies sich das wasserhaltige, welches, in Form eines feinen Pulvers im Vacuum neben Schwefelsäure aufbewahrt, nach 42 Stunden noch keine Gewichtsabnahme bemerken liess.

Die beiden folgenden Analysen gelten für wasserfreies Salz.

0,2298 gr. gaben 42,2 cbccm. N bei 19° und 735 mm. Hg.
0,3208 » » 0,0931 gr. Cu_2S.

	Für $(C_3H_7N_2O_2)$ 2 Cu berechnet:	Gefunden:
N %	20,82	20,39
Cu %	23,49	23,16

Die folgenden Analysen wurden mit wasserhaltiger, im Vacuum getrockneter Substanz ausgeführt.

I. 0,4945 gr. gaben 0,383 gr. CO_2 und 0,2861 gr. H_2O.
II. 0,178 » » 26,2 cbcm. N bei 19° und 731 mm. Hg.
III. 0,1775 » » 26,4 » » » 20° » 731 » »
IV. 0,5623 » » 0.1309 gr. Cu_2S.

Für $(C_3H_7N_2O_2)$ 2 Cu + 4 H_2O:

	Berechnet.	Gefunden. I.	II.	III.	IV.
C %	21,08	21,12	—	—	—
H %	6,46	6.43	—	—	—
N %	16,44	—	16,26	16,34	—
Cu %	18,54	—	—	—	18,57
O %	34,47	—	—	—	—
In Summa . . .	99,99	—	—	—	—

	Für 4 H_2O berechnet:	Gefunden: I.	II.
H_2O %	21,07	21,03	21,18

In Wasser ist das Kupfersalz ziemlich leicht löslich; von einer bei 16—18° gesättigten, wässerigen Lösung hinterliessen 2,5045 gr. bei 105° getrocknet 0,1522 gr. Substanz; somit braucht 1 Theil des wasserhaltigen Salzes 12,17 Theile Wasser von jener Temperatur. In absolutem Alkohol ist das Salz unlöslich. Einige weitere Eigenschaften der Kupferverbindung folgen unten bei der Beschreibung des Quecksilbersalzes.

Diamidopropionsaures Quecksilber.

$(CH_2.NH_2 — CH.NH_2 — COO) 2 Hg + 4 H_2O$.

Zur Darstellung dieses Salzes wird gelbes Quecksilberoxyd im Ueberschuss in eine wässerige Lösung der Diamidopropionsäure eingetragen und die Mischung einige Zeit im Wasserbade digerirt. Die filtrirte und eingeengte Lösung gibt, alsdann mit Alkohol versetzt, nach dem Stehen an kühlem Orte farblose Krystalle, welche anscheinend reguläre Oktaëder und Dodekaëder darstellen.

In Wasser ist das Salz sehr leicht löslich; 0,7815 gr. einer bei 16—18° gesättigten Lösung hinterliessen bei 105°: 0,3248 gr.; somit braucht 1 Th. des wasserhaltigen Salzes 1,19 Wasser von jener Temperatur.

Die Analyse der über Schwefelsäure getrockneten Substanz hatte folgendes Ergebniss:

0,4787 gr. verloren bei 105°: 0,1748 gr., 0,3231 gr. gaben: 0,1567 HgS.

	Für $(C_3H_7N_2O_2)2 Hg + 4 H_2O$ berechnet:	Gefunden:
H_2O %	15,05	15,62
Hg %	41,86	41,62

Das Kupfer- und das Quecksilbersalz der Diamidopropionsäure zeigen einige bemerkenswerthe, gemeinsame Eigenthümlichkeiten.

Die wässerigen Lösungen der beiden Salze reagiren auf Lakmus deutlich alkalisch. Eine so verdünnte Lösung des

Kupfersalzes, dass ein damit benetzter Streifen Filtrirpapier noch farblos erscheint, bläut rothes Lakmuspapier. Bei dem farblosen Quecksilbersalz ist das gleiche Verhalten noch sicherer erkennbar.

Gegen Aetznatron verhalten sich beide Salze indifferent; man kann die Lösungen derselben mit überschüssiger Natronlauge kochen, ohne dass Abscheidung von CuO bezw. HgO oder sonst eine sichtbare Veränderung eintritt. Wahrscheinlich hat die Diamidopropionsäure wenig Neigung, mit stark basischen Elementen Verbindungen einzugehen, da sie selbst mehr den Charakter einer Base, als den einer Säure trägt, wie schon aus der Bildungsweise erhellt. Denn aus dem Reactionsgemisch, in welchem sie entstanden, tritt sie mit einer Säure, HBr, verbunden hervor, obwohl sie Gelegenheit hätte, mit dem in grossem Ueberschuss vorhandenen Ammoniak ein Salz zu geben.

Säuren wirken auf die beiden Salze zersetzend ein. Fügt man verdünnte Salzsäure tropfenweise zur wässerigen Kupferlösung, so verschwindet die blauviolette Färbung und macht einer gelblich-grünen Platz, oder die Lösung wird bei grösserer Verdünnung völlig farblos. Auf Zusatz von Natronlauge im Ueberschuss erscheint wieder die ursprüngliche Farbe, ohne dass vorher Trübung oder Fällung eintritt. Setzt man zu der wässerigen Lösung des Quecksilbersalzes tropfenweise verdünnte Salzsäure, so entsteht zunächst eine weisse, krystallinische Fällung; dieselbe wird durch vermehrten Zusatz von Säure schnell wieder gelöst. Auch Natronlauge löst den entstandenen Niederschlag leicht auf, ohne dass Trübung oder Abscheidung von HgO eintritt.

Schwefelwasserstoff fällt aus dem Kupfer- und Quecksilbersalz schon in der Kälte die betreffenden Metalle als Sulfide aus.

Bemerkenswerth ist in physiologisch-chemischer Hinsicht das Verhalten der beiden Salze. Concentrirte wässerige Lösungen derselben geben mit frischem Serum von Pferdeblut, welches durch Ausschleudern von Blutkörperchen befreit ist, weder Fällung noch Trübung. Ebenso verhält sich auch gegen

filtrirtes, flüssiges Eiweiss vom Hühnerei eine Lösung des Quecksilbersalzes indifferent. Das Kupfersalz wurde mit der letzteren Eiweisssubstanz noch nicht geprüft.

Die Darstellung eines Silbersalzes in fester Form gelang nicht. Ein Bleisalz von constanter Zusammensetzung wurde auch nicht erhalten. Bei der Behandlung des Bromhydrates mit Bleihydroxyd ging zwar stets eine nicht unerhebliche Menge von Bleioxyd in Lösung; allein nach dem Concentriren derselben schieden sich basische Salze aus, mit höherem Bleigehalte, als dem normalen zugekommen wäre; diese erwiesen sich, einmal ausgeschieden, als unlöslich in Wasser. Gut krystallisirende Verbindungen liefert die Diamidopropionsäure mit einer Anzahl, zu den folgenden Versuchen, benutzter Säuren.

Verbindungen mit Säuren.

Sulfat der Diamidopropionsäure.

$(CH_2 . NH_2 - CH . NH_2 - CO_2H)\ 2 . H_2SO_4 + \frac{1}{2}\ H_2O.$

Eine Lösung der freien Diamidosäure wurde mit verdünnter Schwefelsäure bis zur schwach sauren Reaction versetzt, sodann im Wasserbade concentrirt und mit dem mehrfachen Volum Alkohol gemischt. Es entstand sogleich ein weisser, krystallinischer Niederschlag. Das Sulfat bildet Nädelchen, die häufig zu Warzen gruppirt sind.

Analyse. Von der über H_2SO_4 getrockneten Substanz verloren I. 0,4003 gr., 3 Stunden bei 105° gehalten 0,014 gr., ferner II. 0,218 gr, in gleicher Weise behandelt 0,0077 gr. Die wasserfreie Substanz nahm mit Begierde wieder Wasser aus der Luft auf; in schwächerem Grade war auch das wasserhaltige Salz hygroskopisch. Zur Analyse wurde das im Exsikkator getrocknete Salz verwendet.

III. 0,4805 gr. gaben 0,3563 $BaSO_4$.

Für $(C_3H_8N_2O_2)\ 2 . H_2SO_4 + \frac{1}{2}\ H_2O$	berechnet:	Gefunden: I.	II.	III.
H_2O %	2,85	3,49	3,53	—
H_2SO_4	31,10	—	—	31,18

Im Capillarröhrchen erhitzt, bräunt sich das Sulfat bei 210° und schmilzt unter Zersetzung bei 226—228°.

Löslichkeit. 2,112 gr. einer bei 18° gesättigten, wässerigen Lösung hinterliessen bei 105° getrocknet: 0,0759 gr.; demnach braucht 1 Th. des Salzes 26,82 Th. Wasser von jener Temperatur. In Alkohol ist das Sulfat nicht löslich.

Nitrat der Diamidopropionsäure.

$(CH_2.NH_2 - CH.NH_2 - CO_2H).HNO_3$.

Die Darstellung dieses Salzes geschah anolog derjenigen des Sulfats. Das Nitrat bildet Nadeln oder eigenartig gesägte und gezähnte blattartige Formen. Der Schmelzpunkt des Nitrates wurde zu 170° gefunden, bei welcher Temperatur es sich gleichzeitig unter lebhafter Gasentwickelung zersetzte. In Wasser ist das Nitrat leicht löslich. Die wässerige Lösung reagirt ebenso wie diejenige des Sulfats auf Lakmus sauer.

Analyse. Von der im Exsikkator getrockneten Substanz verloren 0,5321 gr. nach 3stündigem Aufenthalt bei 105°: 0,0065 gr. = 1,22%; demnach enthielt die Verbindung kein Krystallwasser, da $\frac{1}{2}$ Mol. H_2O 5,09% Verlust entspräche. 0,2177 gr. der bei 105° getrockneten Substanz lieferten 49 cbcm. N bei 14° und 737 mm. Hg.

	Für $(C_3H_8N_2O_2).HNO_3$ berechnet:	Gefunden:
N%	25,22	25,63

In der gleichen Weise wie diese beiden Verbindungen wurde ein Acetat und ein Oxalat dargestellt.

Acetat der Diamidopropionsäure.

$(CH_2.NH_2 - CH.NH_2 - CO_2H).C_2H_4O_2$.

Das Acetat bildet rhombische Täfelchen, die kein Krystallwasser enthalten. Bei längerem Erhitzen im Luftbad auf 100° wird es flüssig und verliert Essigsäure; nach $2\frac{1}{2}$ Stunden hatte eine so behandelte Probe 24,8% Verlust erlitten. Der Schmelzpunkt des Salzes liegt bei 110—112°. In Wasser ist das Acetat leicht löslich und zeigt darin eine amphotere Reaction auf Lakmus; indessen ist die alkalische Reaction stärker, als die sauere.

Analyse. Von der über H_2SO_4 getrockneten Substanz gaben 0,1782 gr.: 26 cbcm. N. bei 12° und 737 mm. Hg.

	Für $(C_3H_8N_2O_2).C_2H_4O_2$ berechnet:	Gefunden:
N %	17,09	16,78

Oxalat der Diamidopropionsäure.

$$\begin{matrix} COOH.(CH_2.NH_2 - CH.NH_2 - CO_2H) \\ | \\ COOH.(CH_2.NH_2 - CH.NH_2 - CO_2H) \end{matrix} + 2\,H_2O.$$

Das Oxalat bildet Nädelchen, die häufig zu Büscheln und Drusen vereinigt sind und 2 Mol. Krystallwasser enthalten. Es bräunt sich bei 170° und schmilzt unter Zersetzung bei 175—178°.

In Wasser ist das Salz schwer löslich; von einer bei 16—18° gesättigten Lösung hinterliessen 0,9138 gr. nach dem Trocknen bei 105° 0,0058 gr.; somit braucht 1 Th. des wasserhaltigen Salzes 139,7 Th. Wasser jener Temperatur. In Alkohol ist das Oxalat wenig oder nicht löslich.

Analysen. I. 0,3042 gr. verloren bei 110°: 0,031 gr. = 10,19 %.

	Für $(C_3H_8N_2O_2)2.C_2H_2O_4 + 2\,H_2O$ berechnet:	Gefunden:
H_2O %	10,77	10,19

II. 0,2682 gr. der bei 110° getrockneten Substanz gaben 0,131 gr. oxalsaur. Kalk und 0,0496 gr. CaO = 29,72 % Oxalsäure.

	Für $(C_3H_8N_2O_2)2.C_2H_2O_4$ berechnet:	Gefunden:
$C_2H_2O_4$ %	30,18	29,72

Picrat der Diamidopropionsäure.

$$(C_6H_2(NO_2)_3.OH.)(CH_2.NH_2 - CH.NH_2 - CO_2H) + 2\,H_2O.$$

Eine Lösung von 1,5 gr. Pikrinsäure in heissem Wasser wurde mit etwas mehr als der berechneten Menge von Diamidopropionsäure versetzt. Aus der durch Eindampfen concentrirten Flüssigkeit schieden sich bei dem Erkalten glänzend gelbe Krystalle in Form von Blättchen und Prismen ab, die der Picrinsäure ähnlich sehen. Ein Schmelzpunkt konnte nicht bestimmt werden, da die Substanz bei dem Erhitzen gegen 200° sich schwärzte und zersetzte.

In Wasser ist das Picrat schwer löslich. Von einer bei 16—18° gesättigten, wässerigen Lösung hinterliessen 0,9483 gr. nach dem Trocknen bei 105°: 0,006 gr.; somit braucht 1 Th. des Salzes 145 Th. Wasser jener Temperatur. Auch in Alkohol ist das Picrat schwer löslich, selbst bei dem Erwärmen desselben.

Analyse. Von der über H_2SO_4 getrockneten Substanz verloren 0,4639 gr. bei 105°: 0,0453 gr. = 9,76 %; 0,1605 gaben 26,5 cbcm. N bei 12,5° und 731,5 mm Hg.

	Für $(C_6H_2(NO_2)_3.OH)(C_3H_8N_2O_2)+2H_2O$ berechnet:	Gefunden:
H_2O %	9,75	9,76
N %	18,97	18,98

Chloroplatinat der Diamidopropionsäure.

$([CH_2.NH_2 - CH.NH_2 - CO_2H].HCl)\,2.PtCl_4 + H_2O.$

Das Chlorhydrat der Diamidopropionsäure löst sich leicht in einer wässerigen 10proc. Platinchloridlösung. Versetzt man die Lösung nach einigem Stehen mit dem mehrfachen Volum Alkohol, so fällt ein schwerer, gelber krystallinischer Niederschlag aus.

Die Krystalle bestehen aus kleinen Würfeln, welche in Wasser ziemlich leicht löslich sind.

Analyse. Von der über H_2SO_4 getrockneten Substanz verloren 0,6582 gr. bei 105°: 0,0223 gr. = 3,38 %; für 1 Mol. H_2O werden 2,83 %, für 2 Mol. 5,52 % verlangt. Demnach enthält das Doppelsalz 1 Mol. H_2O, wie dies auch die anderen Bestimmungen bestätigten. Durch das Trocknen bei 105° war das Salz bräunlich geworden und schien in leichtem Grade zersetzt zu sein.

0,3134 gr. der wasserhaltigen Substanz gaben 0,0958 gr. metall. Pt.; ferner 0,3428 gr. derselben lieferten 0,105 gr. Pt.

	Für $(C_3H_8N_2O_2.HCl)\,2.PtCl_4 + H_2O$ berechnet:	Gefunden:	
H_2O %	2,83	3,38	
Pt %	30,63	30,57	30,62

Von dem bei 105° getrockneten Salz gaben 0,3678 gr.: 0,1167 gr. Pt.

	Für $(C_3H_8N_2O_2.HCl)\,2.PtCl_4$ berechnet:	Gefunden:
Pt %	31,53	31,73

Umwandlung der Diamidopropionsäure in Glycerinsäure.

Bezüglich der Constitution der beschriebenen Diamidosäure kann nach ihrer Bildungsweise, den ausgeführten Reactionen und Analysen kein Zweifel obwalten, dass sie eine Propionsäure vorstellt, bei welcher 2 an verschiedene Kohlenstoffatome gebundene Wasserstoffatome durch 2 Amidogruppen vertreten sind. Doch erschien es nicht unwichtig, noch einen directen Beweis dafür durch die Umwandlung in Glycerinsäure zu erbringen.

Eine aus etwa 8 gr. Bromhydrat gewonnene Diamidosäure wurde in 1 Liter Wasser gelöst. Die in einem Becherglase befindliche Lösung stellte ich in kaltes Wasser und leitete einen langsamen Strom von salpetriger Säure ein, welche aus einem Gemisch von arseniger Säure und Salpetersäure gewonnen wurde. Die allseitige Vertheilung der Gase beförderte ich durch öfteres Umrühren. Nachdem die Entwickelung von Stickstoff nachliess, wurde die Gaseinleitung sistirt und blieb nun die Flüssigkeit noch $^1/_2$ Tag ruhig stehen; alsdann dampfte ich sie ein und erhielt so einen syrupösen Rückstand, sowie einige Krystalle von dem Aussehen und den Reactionen der Oxalsäure.

Der Rückstand wurde mit Kalk übersättigt, die abfiltrirte Lösung eingedampft und mit Alkohol versetzt. Die ausgeschiedenen Krystalle hatten das dem glycerinsauren Kalk zukommende Aussehen von zu Warzen gruppirten Nädelchen. Nach dem Umkrystallisiren wurden sie analysirt.

0,3295 gr. verloren bei 100° getrocknet 0,0425 gr., 0,2565 gr. des wasserfreien Salzes gaben 0,1475 $CaSO_4$.

	Für $(CH_2OH - CH.OH - COO)_2.Ca + H_2O$ berechnet:	Gefunden:
H_2O %	12,58	12,89
Ca %	14,00	14,78

Die Analyse erbringt somit den Nachweis, dass die Diamidopropionsäure in die ihr entsprechende Oxysäure, die Glycerinsäure, übergeführt worden war.

Dibenzoyl-Diamidopropionsäure.

$$\begin{array}{ll} CH_2.NH - CN.NH - COOH. \\ \quad \diagdown \qquad\quad \diagdown \\ \quad CO.C_6H_5 \quad CO.C_6H_5. \end{array}$$

Die Benzoylderivate der Amidosäuren haben insofern ein besonderes, physiologisches Interesse, als auch der thierische Organismus auf synthetischem Wege häufig Producte erzeugt, die dieser Klasse chemischer Verbindungen angehören.

In der Ornithursäure, dem Dibenzoylderivat einer Diamidovaleriansäure, hat bekanntlich Jaffé[1]) eine wichtige, der schon lange bekannten Hippursäure verwandte Verbindung gefunden. Der Versuch, die Diamidopropionsäure zu benzoyliren, bot nun die nicht unwichtige Beziehung, dass er ermöglichte, einen der Ornithursäure homologen Körper zu gewinnen.

Bekanntlich reagirt Benzoylchlorid unter bestimmten Bedingungen mit grosser Leichtigkeit auf die primäre Amidogruppe. Baumann[2]) zeigte, dass eine mit Natronlauge versetzte Lösung von Aethylendiamin nach der Behandlung mit Benzoylchlorid fast quantitativ das Benzoylderivat der Base lieferte.

Nach dieser Methode wurde auch die Benzoylirung der Diamidopropionsäure vorgenommen und zwar unter der Annahme, dass die Reaction der folgenden Gleichung entsprechen werde:

$$\begin{array}{l} CH_2.NH_2 - CH.NH_2 - CO_2H + 2\,C_6H_5.COCl + 3\,NaOH = \\ \quad CH_2.NH - CH.NH - COONa + 2\,NaCl + 2\,H_2O, \\ \qquad \diagdown \qquad\quad \diagdown \\ \qquad CO.C_6H_5 \quad CO.C_6H_5. \end{array}$$

Bei der praktischen Ausführung wurden indess Benzoylchlorid, wie auch Natronlauge in grösserer Menge, als es die Theorie erfordert, verwendet. Eine Portion des reinen Chlorhydrates der Diamidopropionsäure löste ich in Wasser, fügte Aetznatron in Form einer 10% Lösung, sodann Benzoylchlorid

---

[1]) Ber. d. d. chem. G. X, 4925.

[2]) Ber. d. d. chem. G. XXI, 2745.

hinzu und schüttelte die Mischung so lange, bis der Geruch nach dem Chlorid verschwunden war.

Die klare Flüssigkeit lieferte, nachdem sie mit Salzsäure angesäuert war, einen weissen, krystallinischen Niederschlag, der sich leicht in Alkohol, nur theilweise in heissem Wasser und in Petroläther löste. Das letztere Lösungsmittel konnte mit Erfolg zur Trennung der gleichzeitig entstandenen Benzoësäure von den anderen Bestandtheilen des Niederschlages benutzt werden.

Die zurückbleibenden, mit Petroläther gewaschenen Krystalle wurden in heissem Alkohol gelöst und durch Zusatz von kaltem Wasser gefällt. Der Schmelzpunkt der erhaltenen Substanz wurde zu 195—197° gefunden; nachdem sie nochmals umkrystallisirt war und den gleichen Schmelzpunkt gezeigt hatte, konnten die folgenden Analysen ausgeführt werden.

Die lufttrockene Substanz verlor bei 105° getrocknet nur sehr wenig an Gewicht. Von dem so vorbereiteten Körper gaben:

I. 0,2904 gr.: 0,6927 gr. CO_2 und 0,1445 gr. H_2O.
II. 0,2576 gr.: 21 cbcm. N bei 12° und 729 mm. Hg.
III. 0,363 gr.: 28,6 cbcm. N bei 12° und 733,5 mm. Hg.

Für $(C_3H_6N_2O_2).(C_7H_5O)_2$				
Berechnet:		Gefunden:		
		I.	II.	III.
C °/o	65,35	65,05	—	—
H °/o . . .	5'14	5,52	—	—
N °/o . . .	9,00	—	9,20	9,02
C °/o	20,50	—	—	—
In Summa	99,99	—	—	—

Nach dem Ergebniss der Analyse ist die Substanz, wie die Bildungsweise erwarten liess, eine Dibenzoyl-Diamidopropionsäure. Die Ausbeute war eine sehr gute zu nennen, denn aus 2 gr. des Chlorhydrates wurden 4 gr., durch Umkrystallisiren gereinigtes Product erhalten, während 4,5 gr. berechnet waren.

Die Substanz krystallisirt aus Alkohol in farblosen Nadeln, die sich häufig zu regelmässigen Sternen und Drusen anordnen. In Wasser ist sie nur äusserst wenig löslich, selbst heisses Wasser nimmt nur sehr geringe Mengen auf, die sich durch die saure Reaction der Lösung offenbaren. Bei der Darstellung der Verbindung kann man daher an Stelle von Petroläther ebensogut heisses Wasser zur Entfernung der gleichzeitig entstehenden Benzoësäure verwenden. Am Leichtesten ist das Benzoylderivat in Alkohol löslich; während es in reinem Zustande von Aether fast gar nicht aufgenommen wird, löst derselbe ziemlich leicht das bei der Darstellung erhaltene Gemenge der Substanz mit Benzoësäure. Bezüglich der Löslichkeitsverhältnisse zeigt demnach die Verbindung grosse Uebereinstimmung mit der Ornithursäure Jaffé's. Letztere ist ebenfalls nahezu unlöslich in Wasser, sehr wenig in Aether, dagegen leicht in Alkohol löslich. Von Natronlauge wird die Dibenzoyl-Diamidopropionsäure leicht aufgenommen, indem sich jedenfalls ein sehr lösliches Natriumsalz bildet.

Ein Salz in fester Form stellte ich noch dar zur Charakterisirung der Säure und zwar

Dibenzoyl-diamidopropionsaures Baryum.

$$\left[\begin{array}{l} CH_2.NH - CH.NH - COO \\ \qquad\ \diagdown \qquad\qquad \diagdown \\ \qquad CO.C_6H_5 \quad CO.C_6H_5 \end{array}\right] 2.Ba.$$

In einem Ueberschuss von heisser Barythydratlösung wurde 1 gr. der Benzoylverbindung gelöst, alsdann, nach dem Erkalten der Lösung der nicht gebundene Baryt durch Einleiten von Kohlensäure ausgefällt. Die abfiltrirte Flüssigkeit schied nach dem Concentriren weisse, undeutlich krystallinische Krusten aus, die sehr schwer in kaltem, etwas in heissem Wasser, leicht in Alkohol löslich waren. Sie wurden mit heissem Alkohol aufgenommen und in ein mehrfaches Volum Aether hineinfiltrirt, wodurch ein blendend weisser, pulverförmiger Niederschlag entstand.

Das so dargestellte Barytsalz enthält kein Krystallwasser. Im Gegensatz zu der Schwerlöslichkeit desselben in Wasser

steht die Leichtlöslichkeit des ornithursauren Baryts im gleichen Lösungsmittel.

Analyse. Von der bei 105° gr. trockneten Substanz gaben 0,3169 gr.: 0,097 gr. $BaSO_4$.

	Für $(C_{17}H_{16}N_2O_4)$ 2. Ba berechnet:	Gefunden:
Ba %	18,06	18,00

Zusammenstellung der bisher über Diamidofettsäuren bekannten Ergebnisse.

Von der Gruppe der Diamidofettsäuren sind jetzt 4 Repräsentanten bekannt:

1. Diamidoessigsäure: $CH(NH_2)_2 - COOH$,
2. Diamidopropionsäure: $CH_2.NH_2 - CH.NH_2 - COOH$,
3. Diamidovaleriansäure oder Ornithin: $C_5H_{10}(NH_2)_2O_2$,
4. Diamidocapronsäure oder Lysin: $C_6H_{10}(NH_2)_2O_2$.

Entsprechend dem allgemeinen Gesetze, dass Glieder homologer Reihen in Folge gleicher Constitution ähnliche chemische und physikalische Eigenschaften aufweisen, zeigen auch diese Diamidosäuren einige gemeinsame Charaktere.

Die 4 bisher bekannten Säuren stellen sich als feste, krystallinische Körper dar, welche in Wasser zerfliesslich sind; selbst die höheren Glieder, Ornithin und Lysin, erweisen sich noch als sehr leicht löslich in Wasser und übertreffen in dieser Beziehung die entsprechenden, einfachen Amidosäuren. In Alkohol und Aether sind die niederen Glieder unlöslich: vom Ornithin berichtet Jaffé, dass es auch in Alkohol löslich sei.

In chemischer Hinsicht sind diese Substanzen als Carbonsäuren der Diamine der Fettreihe charakterisirt; die stark basischen Eigenschaften der Diamine sind durch die Anwesenheit einer Carboxylgruppe im Molekül nicht aufgehoben, sondern nur etwas abgeschwächt. Der überwiegende Einfluss der beiden Amidogruppen äussert sich sowohl in der kräftigen, alkalischen Reaction auf Lakmus, wie auch in dem Vermögen als einsäurige, beziehungsweise mehrsäurige Basen aufzutreten und mit Säuren beständige Verbindungen einzugehen; sogar mit einer so schwachen Säure, als es die Kohlensäure ist, vermag Lysin noch ein Salz zu geben.

Die Lösungen der freien Diamidosäuren absorbiren Kohlensäure aus der Luft; wenigstens ist dies für das Lysin und die Diamidopropionsäure nachgewiesen, wenngleich von letzterer eine feste kohlensaure Verbindung nicht gewonnen werden konnte. Die Diamidopropionsäure verhält sich ferner beim Erwärmen mit Lösungen der Ammonsalze, den letzteren gegenüber, wie eine fixe Base, welche das flüchtige Ammoniak austreibt.

Die beiden Amidogruppen erscheinen als ebenso fest gebunden, wie die einzelne Amidogruppe in den einfachen Amidosäuren. Drechsel erhielt die Diamidoessigsäure[1]) aus einer Lösung, welche mit einem grossen Ueberschuss an concentrirter Salzsäure im geschlossenen Rohr auf 140° erhitzt worden war. Die Diamidopropionsäure blieb, wie oben mitgetheilt wurde, bei einem analogen Versuch ebenfalls unverändert. Das gleiche Verhalten hat Drechsel für das Lysin nachgewiesen; mit Ornithin ist ein solcher Versuch, soweit mir bekannt, noch nicht angestellt worden.

Andererseits behalten die Diamidofettsäuren auch ihren Charakter als Säuren bei, indem sie auch mit Basen Verbindungen eingehen; wenigstens sind von der Diamidopropionsäure solche Salze erhalten worden.

Für die Erkennung und Isolirung der Diamidofettsäuren ist ihre Fähigkeit wichtig, mit Phosphorwolfram- und Phosphormolybdänsäure in Wasser unlösliche Niederschläge zu geben, aus denen sie durch passende Behandlung herausgeholt werden können. Auch Benzoylchlorid ist für solche Zwecke sehr brauchbar, da es meist gut krystallisirende, in Wasser fast unlösliche Benzoylderivate in vortrefflicher Ausbeute liefert.

Die bisher bekannten Verbindungen der Diamidofettsäuren mit Säuren und Basen lassen, trotz des gemeinsamen Gattungscharakters, indessen auch einige bemerkenswerthe, individuelle Unterschiede zwischen den einzelnen Gliedern erkennen, Unterschiede, welche, wie es in homologen Reihen Regel ist, mehr quantitativer als qualitativer Art sind.

Vom Lysin, der Diamidocapronsäure, hat Drechsel 2 Chlorhydrate, ein Mono- und ein Dichlorhydrat dargestellt.

---

[1]) Ber. d. math.-phys. Kl. d. Kgl. Sächs. Ges. d. Wiss., 1892, S. 118.

Das Lysindichlorhydrat $(C_6H_{14}N_2O_2)(HCl)_2$ ist eine so feste Verbindung, dass er es 14 Stunden auf 120—130° erhitzen konnte, ohne dass Abspaltung von Salzsäure eintrat. Das Platindoppelsalz des Lysins hat die Formel: $(C_6H_{14}N_2O_2)(HCl)_2.PtCl_4 + C_2H_5(OH)$; in demselben ist also 1 Mol. Lysin 2 Mol. Ammoniak äquivalent.

Von dem nächst niederen Homologen, dem Ornithin, hat Jaffé gleichfalls 2 Chlorhydrate dargestellt, nämlich ausser dem Monochlorhydrat ein Salz, welches auf 1 Mol. Ornithin $1^1/_2$ Mol. HCl enthielt von der Formel: $(C_5H_{12}N_2O_2) + 1{,}5\,HCl$; dem letzteren analog war auch das Oxalat: $(C_5H_{12}N_2O_2)\,2 + 1{,}5\,C_2H_2O_4$ zusammengesetzt. Ein Platindoppelsalz des Ornithins gelang es nicht darzustellen. Ein Chlorhydrat mit 2 Mol. HCl oder ein anderes Salz, welches Ornithin als zweisäurige Base hätte erscheinen lassen, hat Jaffé nicht erhalten.

Das nächste nun bekannte Homologe, die Diamidopropionsäure, bildet, wie die mitgetheilten Versuche übereinstimmend ergeben, mit Säuren nur Salze, welche ihr den Charakter einer einsäurigen Base verleihen. Als Beispiele führe ich die folgenden Verbindungen an:

Chlorhydrat $(C_3H_8N_2O_2).HCl$,
Sulfat: $(C_3H_8N_2O_2)\,2.H_2SO_4 + {}^1/_2\,H_2O$,
Oxalat: $(C_3H_8N_2O_2)\,2.C_2H_2O_4 + 2\,H_2O$;

auch das Platindoppelsalz reiht sich diesem Verhalten an: $[(C_3H_8N_2O_2).(HCl)]\,2.PtCl_4 + H_2O$; die Diamidopropionsäure ist in dem letzteren, im Gegensatz zur Diamidocapronsäure, nur einem Mol. Ammoniak äquivalent. Die besonders angestellten Versuche, ein Dichlorhydrat sowie ein Dibromhydrat zu gewinnen, verliefen, wie mitgetheilt, resultatlos. Es zeigte sich nur noch eine schwache Neigung der Monoverbindungen zu mehr Säure in der leichteren Löslichkeit derselben im säurehaltigen Wasser. Der schwächer basische Charakter der Diamidopropionsäure tritt auch in dem Acetat hervor, welches bei 100° bereits Essigsäure verliert und dessen wässerige Lösung amphoter auf Lakmus reagirt. Von der Diamidoessigsäure ist bisher nur ein Monochlorhydrat bekannt geworden.

Wir bemerken also ein stufenweises Zunehmen des basischen Charakters der Diamidofettsäuren von den niederen Gliedern zu den höheren. Diese gradweise Aenderung steht im Einklang mit den von Thomsen und Ostwald über die «Avidität» oder «relative Affinität» der Säuren, speciell der Fettsäuren, gemachten Beobachtungen. Nach den Untersuchungen dieser Forscher sinkt mit zunehmendem Kohlenwasserstoffgehalt die Avidität, wird die «Stärke» der Fettsäure eine kleinere. Die beiden, in die Moleküle der Fettsäuren eintretenden Amidogruppen werden daher bei den höheren Gliedern einen relativ grösseren Einfluss geltend machen, als bei den Anfangsgliedern.

Es lässt sich auf Grund der bei der Diamidopropionsäure gemachten Erfahrungen mit grosser Wahrscheinlichkeit voraussagen, dass die Diamidoessigsäure in ihren erst noch darzustellenden Salzen sich gegen Säuren auch nur wie eine einsäurige Base verhalten wird.

Bezüglich der Verbindungen der Diamidofettsäuren mit Basen liegt noch zu wenig Beobachtungsmaterial vor, um allgemeine Schlüsse daraus ziehen zu können.

Jaffé berichtet von Ornithin, dass es wohl leicht Kupferoxyd und Silberoxyd löse, dass er indess krystallisirte Verbindungen nicht bekommen konnte. Ein Salz des Lysins mit Basen ist bisher auch nicht bekannt geworden. Die Diamidopropionsäure liefert, wie oben angegeben, ein gut krystallisirendes Kupfer- und Quecksilbersalz. Es ist nicht unwahrscheinlich, dass die stärker basischen, höheren Diamidofettsäuren weniger Neigung haben, mit Basen Verbindungen einzugehen, als die niederen

---

Die vorstehend mitgetheilte Arbeit wurde im physiologisch-chemischen Institute der Universität Tübingen unter Leitung von Herrn Professor Dr. G. Hüfner ausgeführt; es ist mir eine angenehme Pflicht, diesem, meinem hochverehrten Lehrer, auch hier für die mir in reichem Masse gewährte Unterstützung meinen aufrichtigen und herzlichsten Dank zu sagen.

Uebersicht der dargestellten Verbindungen.

Formel.	Physikal. Beschaffenheit.	Schmelzpunkt.	Löslichkeit in: Wasser.	Alkohol.	Aether.
$CH_2.NH_2 - CH.NH_2 - COOH$	Farblos, fest krystallinisch	97° ?	Zerfliesslich	unlöslich	unlöslich.
$(CH_2.NH_2 - CH.NH_2 - CO_2H).HBr$	Farblose Krystalldrusen	228—230°	1 Th. braucht 12,5 Th. H_2O v. 20°	unlöslich	—
$(CH_2.NH_2 - CH.NH_2 - CO_2H).HCl$	Farblose Krystalldrusen	225°	1 Th. braucht 11,57 Th. H_2O v. 20°	unlöslich	—
$(CH_2.NH_2 - CH.NH_2 - CO_2H)\,2.H_2SO_4 + \frac{1}{2}H_2O$	Farblose Nadeln	226—228°	1 Th. braucht 26,82 Th. H_2O v. 18°	unlöslich	—
$(CH_2.NH_2 - CH.NH_2 - CO_2H).HNO_3$	Farblose Nadeln	170°	leicht löslich	—	—
$(CH_2.NH_2 - CH.NH_2 - CO_2H).C_2H_4O_2$	Farblose, rhombische Täfelchen.	110—112°	leicht löslich	—	—
$(CH_2.NH_2 - CH.NH_2 - CO_2H)\,2.C_2H_2O_4 + 2H_2O$	Farblose Nädelchen.	175—178°	1 Th. braucht 139,7 Th. H_2O v. 16—18°	unlöslich	—
$(CH_2.NH_2 - CH.NH_2 - CO_2H)(C_6H_2(NO_2)_3.OH.) + 2H_2O$	Gelbe Prismen.	—	1 Th braucht 145 Th. H_2O v. 16—18°	schwer löslich	—
$(CH_2.NH_2 - CH.NH_2 - COO)\,2.Cu + 4H_2O$	Dunkelblaue, monokline Krystalle	—	1 Th. braucht 12,17 Th. H_2O v. 16—18°	unlöslich	—
$(CH_2.NH_2 - CH.NH_2 - COO)\,2.Hg + 4H_2O$	Farblose Oktaëder und Dodekaeder	—	1 Th. braucht 1,19 Th. H_2O v. 16—18°	unlöslich	—
$[(CH_2.NH_2 - CH.NH_2 - CO_2H).(H.Cl)]\,2 + PtCl_4 + H_2O$	Gelbe Würfel	—	leicht löslich	schwer löslich	—
$CH_2(NH.C_6H_5CO) - CH(NH.C_6H_5.CO) - COOH$	Farblose Nadeln	195—197°	fast unlöslich	leicht löslich	fast unlöslich.
$[CH_2(NH.C_6H_5.CO) - CH(NH.C_6H_5.CO) - COO]\,2.Ba$	Farblose, krystallinische Schuppen	—	schwer löslich	leicht löslich	unlöslich.

Ueber die Natur der Kohlehydrate des normalen Harns.

II. Mittheilung

Von

Dr. med. **Karl Baisch.**

(Aus dem Laboratorium von Professor Baumann, Freiburg i. B.)
Der Redaction zugegangen am 12. März 1894.)

Vor einiger Zeit habe ich den ersten Theil einer Untersuchung veröffentlicht[1]), welche sich mit der Natur der aus dem Harn durch Schütteln mit Benzoylchlorid und Natronlauge zu isolirenden Benzoylverbindungen beschäftigt. Dabei war es in erster Linie von Wichtigkeit, eine Reihe von Versuchen anzustellen, welche sich auf die Darstellung dieser Benzoylverbindungen, die Ermittelung der in ihnen enthaltenen Beimengungen und ihre Reinigung erstreckten.

Es ist mir damals entgangen, dass auf Veranlassung und unter Leitung von v. Udránszki G. v. Fodor[2]) ermittelt hat, inwieweit diese Methode der Benzoylirung des Harns zu einer quantitativen Bestimmung der Kohlehydrate verwendet werden kann. Er fand es am zweckmässigsten, auf 100 cbcm. Harn 10 cbcm. Benzoylchlorid und 80—100 cbcm. 10 proc. Natronlauge zu nehmen. Er machte ferner die Beobachtung, dass die Abscheidung der Kohlehydrate eine vollständigere dadurch wird, dass man zuvor den Harn mit Wasser auf das 3—4 fache verdünnt und erst dann die Benzoylirung

---

1) Zeitschr. f. phys. Chemie, Bd. 18, S. 193.

2) Festschrift für Prof. F. v. Korányi, Budapest 1891.

vornimmt. Auch gibt er den gewiss beachtenswerthen Rath, den Ueberschuss an Alkali nach Beendigung der Benzoylirung abzustumpfen. Er erklärt die dadurch erzielten grösseren und besser übereinstimmenden Ausbeuten aus dem Umstande, dass so die weitere Einwirkung der Lauge auf etwa vorhandene dextrinartige Körper, die sich sonst rasch verseifen, ausgeschaltet wird.

Die vorliegende Arbeit befasst sich ausschliesslich mit der Frage nach der Natur der Körper, welche jene Benzoylverbindungen eingehen.

Bezüglich der bisher vorliegenden Untersuchungen über die Benzoylverbindungen des Harns möchte ich auf den ersten Theil der Arbeit, wo auf dieselben ausführlich Bezug genommen wird, zurückverweisen. Seitdem ist eine neue Publikation über den gleichen Gegenstand von J. L. W. Thudichum erschienen, welcher, wie früher Salkowski es gethan hat, gegen die Ergebnisse der vorläufigen Untersuchungen von Wedenski Einwände bzw. Widerspruch erhebt.

Man muss anerkennen, dass Thudichum sich bemüht hat, durch eigene Untersuchungen die Natur der Benzoylverbindungen des Harns zu erforschen. Nach einem Referat in der Chemikerzeitung[1]) — die Originalarbeit war mir nicht zugänglich — hat er den Harn nach vorhergehender Fällung mit Natriumcarbonat und Abfiltriren mit Benzoylchlorid und Natronlauge behandelt und aus dem so erhaltenen Niederschlag dreierlei Producte gewonnen: 1. eine ölige, in kaltem Alkohol lösliche Substanz, 2. ein festes Product, welches sich erst in heissem Alkohol löste, und 3. einen auch in kochendem Alkohol unlöslichen Körper. Diese 3 Producte erklärt er sämmtlich für Abkömmlinge des Urochroms. Auch er constatirte das Vorhandensein von Stickstoff und zwar von 1,5—3%. Als er Benzoylchlorid auf eine wässrige «Urochrom»-lösung einwirken liess, welches nach der «Eisenchloridmethode» dargestellt war, erhielt er ein Product, welches 1,77% Stickstoff zeigte.

---

[1]) Chemikerzeitung, 1893, Nr. 99.

J. L. W. Thudichum hat ganz richtig erkannt, dass in der That der Benzoylniederschlag aus dem Harn aus verschiedenen Körpern besteht und keineswegs weder eine reine noch eine einheitliche chemische Verbindung darstellt, indessen ist es ihm trotz aller Bemühungen nicht gelungen, eine zuckerartige Substanz aus diesen Benzoylverbindungen abzuscheiden.

Um die Bestandtheile der Benzoylverbindungen des Harns und ihre Zusammensetzung zu ermitteln, ist es in erster Linie nöthig, aus ihnen durch Abspaltung der Benzoësäure zu den Körpern selbst zu gelangen, deren Benzoylverbindungen in jenem Gemenge vorliegen. Wie schon früher erwähnt, hat Wedenski versucht, durch Natronlauge den Ester zu verseifen und gefunden, dass dies nur unvollständig gelingt. Den Rest spaltete er mit verdünnter Schwefelsäure. Mit der ersteren Lösung erhielt er Reactionen, aus welchen er auf das Vorhandensein des thierischen Gummis von Landwehr schloss. Den mit Natronlauge nicht verseifbaren Antheil behandelte er mit verdünnter Schwefelsäure und erhielt dadurch nach Entfernung der abgespaltenen Benzoësäure durch Aether eine Lösung, die sich gegen Alkalien und alkalische Kupfer- oder Wismuthlösung wie Traubenzucker verhielt und wieder benzoylirt werden konnte, deren wirksame Substanz er desshalb auch für Traubenzucker ansprach.

Man könnte aus Wedenski's Angaben möglicherweise den Schluss ziehen, als ob die Benzoylverbindungen des Traubenzuckers durch Alkalien überhaupt nicht vollständig verseift werden könnten. Dass dies nicht der Fall ist, hat Kueny[1]) gezeigt, welcher das aus reinem Traubenzucker dargestellte Pentabenzoat der Einwirkung verschiedener Säuren und Alkalien unterwarf. Während Schwefelsäure und Salpetersäure keine vollständige Spaltung des Esters bewirkten, machte er die Beobachtung, dass bei Behandlung mit verdünnter Kalilauge schon beim blossen Stehen in der Kälte nach 6 Stunden eine Verseifung beginnt, die jedoch nicht zu Ende geht. Erhitzte er dagegen den Ester mit verdünnter Natronlauge auf 100°, so begann nach 10 Minuten sich eine Ein-

---

[1]) Zeitschr. f. phys. Chemie, Bd. 14, S. 341.

wirkung bemerkbar zu machen, die jedoch ebenfalls nicht zur völligen Zerlegung des Esters führte. In der Flüssigkeit konnte Kueny zu keiner Zeit Zucker nachweisen. Ich habe diesen Versuch in der Weise wiederholt, dass ich 5 gr. reinen Traubenzucker-Pentabenzoats mit 100 cbcm. reiner 10proc. Natronlauge auf dem Wasserbad erhitzte. Die Mischung färbte sich rasch braun und nach einer Stunde reducirte die Lösung Kupfersulfat. Die Reductionsfähigkeit nahm zu bis zur 3. Stunde, wo sie ziemlich reichlich war und nahm von da an wieder ab, so dass nach weiteren 2 Stunden nur noch eine geringe, nach 3 Stunden gar keine Reduction mehr nachgewiesen werden konnte.

Wenn es demnach auch gelingt, mit verdünnten Alkalien den Ester zu verseifen, so wird doch vor Vollendung der Spaltung der abgetrennte Zucker weiter verändert, so dass sich speciell für meine Zwecke ein anderer Weg als zweckmässig erwiesen hat, der ebenfalls von Kueny schon angegeben wurde, nämlich die Behandlung mit Natriumäthylat. Kueny konnte in der durch Einwirkung des Natriumäthylats auf reines Traubenzucker-Pentabenzoat erhaltenen Lösung nach Entfernung der Benzoësäure starke Reduction und intensive Furfurolreaction nachweisen, ausserdem erhielt er mit Phenylhydrazin das charakteristische Glukosazon, auf dessen Beschreibung und Analyse er jedoch nicht näher eingeht. Die Verseifung war ferner eine nahezu quantitative. Denn die Lösung zeigte eine Rechtsdrehung von 48 Minuten, während er nach der Theorie 50′ erwarten durfte. Auch die Gährungsfähigkeit war nicht beeinträchtigt, vielmehr vergährte die Lösung mit Bierhefe ebenso leicht, wie eine Traubenzuckerlösung von demselben Gehalte.

Bei den Spaltungen, die ich sowohl mit Traubenzuckerbenzoat, als auch mit dem aus dem Harn gewonnenen Ester vorgenommen habe, habe ich mit geringen Abänderungen, welche ich bei Besprechung der einzelnen Verseifungen jeweils erwähnen werde, stets folgenden Gang eingehalten.

Zur Herstellung des Natriumäthylats wurden auf je 10 gr. Ester 7,5 gr. metallisches Natrium, welche in 300 cbcm.

abgekühlten absoluten Alkohol eingetragen wurden, verwendet.

In diese Lösung wird nun unter beständigem Umschütteln und Abkühlen des Gefässes in der Kältemischung der fein zerriebene Ester in Substanz allmälig eingebracht. Um weitere Veränderungen des etwa vorhandenen Zuckers zu verhüten, wurde die Verseifung immer bei einer Temperatur von — 5° C ausgeführt[1]). Die Verseifung ist ungefähr nach 20—40 Minuten zu Ende. Dieser Punkt wird leicht erkannt dadurch, dass eine herausgenommene Probe mit dem 3—4fachen Volumen Wasser sich nicht mehr trübt, ein Zeichen, dass kein unverändertes Benzoat mehr vorhanden ist. Setzt man mehr Wasser zu, so entsteht zunächst wieder eine Trübung durch Benzoësäureäthylester, die auf weiteren Zusatz von viel Wasser jedoch ebenfalls verschwindet. Der Benzoësäureäthylester macht sich schon durch seinen obstähnlichen Geruch bemerkbar.

Die Verseifung ist insoferne keine ganz vollständige, als immerhin geringe krümliche Mengen von unverändertem Benzoat übrig bleiben. Ihre Quantität ist eine um so geringere, je feiner der Ester vorher zerrieben wurde.

Trübt sich die herausgenommene Probe nicht mehr mit Wasser, so wird sofort zur Verhinderung weiterer Einwirkung des Alkalis soviel verdünnte Schwefelsäure zugesetzt, als zur Ueberführung des verwendeten Natriums in primäres Natriumsulfat nöthig ist. Es empfiehlt sich die Verdünnung der Schwefelsäure in der Weise vorzunehmen, dass man zunächst die erforderliche Menge concentrirter Säure abwägt und dann ebensoviel cbcm. Wasser zusetzt, als vorher zur Herstellung des Aethylats Alkohol verwendet worden war.

Wenn die Benzoylverbindungen des Harns nur aus Benzoësäureestern des Traubenzuckers beständen, so würde die Mischung jetzt nur Traubenzucker, Benzoësäure und primäres Natriumsulfat enthalten.

---

[1]) Die Temperatur ist auch insofern von Bedeutung, als bei Verwendung höherer Temperatur die Verseifung ziemlich rasch, bei Temperaturen unter 0° beträchtlich langsamer erfolgt.

Durch mehrmaliges Ausschütteln mit Aether wird zunächst die Benzoësäure entfernt. Man versetzt die nicht filtrirte Lösung mit etwa derselben Quantität Aether und beobachtet dabei eine gute Trennung der alkoholisch-wässrigen Schicht von der ätherischen. Doch fällt bei Verarbeitung des aus dem Harn gewonnenen Benzoylniederschlags schon jetzt auf, dass sich zwischen beiden Schichten eine mehr schleimige Schicht befindet, die bei der zweiten Ausschüttelung mit Aether erheblich zunimmt, und die reinliche Trennung der Schichten bedeutend erschwert. Durch Zusatz von Alkohol wird die Abscheidung des Aethers erleichtert. Die Emulgirung der Flüssigkeit tritt bei der 2. und 3. Aetherausschüttelung meist noch stärker hervor. Durch vorsichtigen Zusatz von geringen Mengen von Alkohol können diese Emulsionen immer in 2 Schichten getrennt werden. Im Ganzen wird dreimal mit ungefähr denselben Mengen Aether ausgeschüttelt, die einzelnen Aetherauszüge werden je mit 100 cbcm. Wasser zweimal ausgewaschen und das Waschwasser mit der wässrig-alkoholischen Lösung vereinigt, aus welcher schon während des Ausschüttelns mit Aether sich Krystalle von primärem Natriumsulfat abscheiden. Die Ausschüttelung des Aethers mit Wasser ist erforderlich, da immerhin geringe Mengen Zucker in den Wasser und Weingeist enthaltenden Aether übergehen, was man daran leicht erkennen kann, dass der Aetherrückstand, wenn er nicht mit Wasser gewaschen wurde, Kupfersulfat reducirt.

Die weingeistig-wässrige Lösung wurde nun mit Natronlauge unter Umrühren, so lange versetzt bis die Reaction eben noch deutlich sauer war. Der geringe Rest von freier Säure wurde nun mit Natriumcarbonat vollends abgestumpft[1]), wobei indess mit Sorgfalt darauf geachtet wurde, dass die Reaction der Lösung niemals alkalisch wurde.

Zur Entfernung des Natriumsulfats wird nun die Flüssigkeit, in welcher in der Regel schon Krystalle von Natrium-

[1]) Bei einigen Verarbeitungen wurde von vornherein mit Soda neutralisirt, wobei die reichliche Entwickelung der Kohlensäure für die Erkennung des neutralen Punktes sich als störend erwies.

sulfat sich abgeschieden haben, mit dem 2—3fachen Volumen Alkohol versetzt und über Nacht bei Seite gestellt.

Die vom Natriumsulfat abfiltrirte Flüssigkeit wird nun in einer flachen Schale auf schwach geheiztem Wasserbade verdunstet, wobei immer sorgfältig auf die Reaction der Flüssigkeit geachtet und dafür gesorgt wurde, dass nie alkalische Reaction eintrat und die saure Reaction nicht stärker wurde, als dass sie durch Lakmus eben angezeigt wurde. Man dampft ein, bis aller Alkohol vertrieben ist. Gibt, was bei Verarbeitung des Benzoylniederschlags aus Harn die Regel ist, eine herausgenommene Probe mit Alkohol noch eine Fällung, so versetzt man die Gesammtmenge der Lösung nochmals mit dem 4—5fachen Volum Alkohol, filtrirt ab und dampft wieder vorsichtig ein. Man erhält so eine gelb bis bräunlich gefärbte Lösung, welche zum Nachweis des Traubenzuckers direkt oder nach vorangegangener Entfärbung mit neutralem Bleiacetat weiter verwendet wurde.

Controlversuch der Verseifung von 5 gr. reinem Traubenzuckerbenzoat.

Bevor diese Methode der Verseifung auf die Benzoylverbindungen des Harns angewendet wurde, war es wichtig, durch einen besonderen Versuch auf's Genaueste festzustellen, ob bei dieser Art der Verseifung aus den Benzoësäureestern des Traubenzuckers nicht ausser dem Traubenzucker, durch eine Einwirkung des Natriumäthylats auf letzteren, Körper gebildet werden, welche Zuckerreactionen geben, ohne identisch mit dem Traubenzucker zu sein.

Kueny hat in dieser Beziehung schon festgestellt, dass das reine Pentabenzoat des Traubenzuckers durch die Behandlung mit Natriumäthylat vollständig verseift wird und der dabei gebildete Traubenzucker rasch und völlig mit Bierhefe vergährt. Es fehlt aber noch der Nachweis darüber, ob neben diesem Traubenzucker nicht unvergährbare Körper, welche Reductionsfähigkeit besassen oder Osazon bilden konnten, ausserdem gebildet worden waren. Die Feststellung dieses Punktes ist natürlich von ganz besonderer Wichtig-

keit für die aus meinen Beobachtungen weiter unten zu ziehenden Schlussfolgerungen. Der Controlversuch wurde mit einem Gemenge von Benzoësäureestern des Traubenzuckers angestellt, welches neben Pentabenzoat auch andere Benzoësäureester enthielt und den Schmelzpunkt 162° zeigte; denn wenn im Harn Traubenzucker enthalten ist, so erhält man bei der Benzoylirung, was schon Baumann betont hat, nicht den Penta- oder Tetrabenzoylester, sondern ein Gemenge von verschiedenen Estern des Traubenzuckers.

Die Verseïfung, welche genau in der früher angegebenen Weise vorgenommen wurde, ergab, dass diese Spaltung glatt und vollständig erfolgt war.

Es wurden nach der Abdunstung des Alkohols 25 cbcm. einer schwach sauer reagirenden klaren, gelblich gefärbten Flüssigkeit erhalten, welche Fehling'sche Lösung stark reducirte.

Diese 25 cbcm. wurden mit wenig geschlemmter Hefe über Quecksilber aufgestellt und zur Controle in einer zweiten Röhre 20 cbcm. einer 1 proc. Traubenzuckerlösung, sowie in einer dritten Röhre Hefe allein angesetzt.

Nach ungefähr 1/2 Stunde beginnen die ersten beiden Röhren etwa gleichzeitig zu gähren. Die durch Verseifung gewonnene Lösung der ersten Röhre gährt jedoch viel rascher: nach 3 Stunden hatten sich schon ca. 25 cbcm. Kohlensäure gebildet. Nach 24 Stunden ist die Gährung in beiden Röhren beendigt.

Die vergohrenen Flüssigkeiten werden herausgenommen und filtrirt und es muss als wichtig hervorgehoben werden, dass keine von beiden Lösungen reducirte oder ein Glukosazon lieferte. Die Vergährung der durch Verseifung ihres Benzoylesters gewonnenen Traubenzuckerlösung ist also ebenso vollständig verlaufen, wie diejenige von reinem Traubenzucker.

Verseifung der Benzoylverbindungen aus dem Harn.

Es ist ausdrücklich zu bemerken, dass zur Gewinnung der Benzoylverbindungen nur solcher Harn verwendet wurde,

bei welchem die Trommer'sche Probe mit Natronlauge und Kupfersulfat negativ ausfiel. Dieser Harn, welcher von Praktikanten des Laboratoriums stammte, wurde in Portionen von je 5 l nach Ausfällung der Phosphate mit Natronlauge mit den entsprechenden, früher angegebenen Mengen von Benzoylchlorid und Natronlauge versetzt, bis zum Verschwinden des Geruchs nach Benzoylchlorid geschüttelt, die Niederschläge nach dem Absitzen abfiltrirt, ausgewaschen, noch bevor sie ganz trocken waren, mit verdünnter Salzsäure zerrieben, bis zum Verschwinden der Salzsäurereaction im Filtrat ausgewaschen und getrocknet. Es ist einer der grössten Vortheile der Benzoylchloridmethode, dass sie es ermöglicht, die geringen Mengen von Zucker in jedem Harn mit wenigen Verunreinigungen zu isoliren und in haltbarem Zustande aufzusammeln.

Zur Verseifung wurden jeweils 20 gr. des gereinigten Estergemenges verwendet. Dabei wurde immer nach dem oben geschilderten Gange verfahren. Wenn trotz dieser gleichmässigen Behandlung der einzelnen zu verseifenden Portionen Differenzen in den Resultaten zu Tage traten, so ist dieser Umstand zu erklären aus dem wechselnden Gehalt des Esters bezw. des Harns an denjenigen Substanzen, welche an der Benzoylchloridreaction betheiligt sind. Im Ganzen wurden ungefähr 200 gr. der aus dem Harn gewonnenen Benzoylverbindungen verarbeitet.

Der Verlauf des Verseifungsprocesses war übereinstimmend mit demjenigen der Benzoylverbindungen des reinen Traubenzuckers, dagegen zeigte sich bei der weiteren Verarbeitung, insbesondere bei dem Punkte derselben, wo die abgespaltene Benzoësäure aus der angesäuerten Flüssigkeit durch Schütteln mit Aether entzogen werden muss, die Erscheinung, welche schon oben kurz erwähnt worden ist. Während früher bei der Verwendung von Benzoyltraubenzucker die Benzoësäure durch Aether sehr leicht und vollständig entfernt werden konnte, ergaben sich hierin Schwierigkeiten bei der Verarbeitung der Benzoylverbindungen des Harns und zwar dadurch, dass die mit Aether ausgeschüttelte Flüssigkeit sich häufig in eine schleimige Masse verwandelte. Die Aether-

schicht konnte infolgedessen nur dadurch abgetrennt werden, dass man nicht unbeträchtliche Mengen von Alkohol hinzusetzte. Dadurch wurde wieder bedingt, dass wegen des grösseren Alkoholgehaltes des Aethers nicht unerhebliche Mengen der Kupferoxyd reducirenden Substanzen in den Aether übergingen. Um diese Quantitäten der Verseifungsproducte nicht zu verlieren, war es geboten, den Aetherauszug wiederholt mit kleinen Mengen von Wasser auszuschütteln, wodurch die in Aether gelöste zuckerartige Substanz demselben wieder entzogen wurde. Die Ursache der vollständigen Emulgirung beim Ausschütteln der Flüssigkeit mit Aether ist ohne Zweifel dieselbe, welche jener Emulgirung zu Grunde liegt, die man in mehr oder minder starkem Grade auch beim Ausschütteln von frischem oder eingedampftem Harn mit Aether so oft beobachtet. Es verdient bemerkt zu werden, dass die Substanz, durch welche die Emulgirung bedingt wird, in die unlösliche Benzoylverbindung, die aus dem Harn gewonnen wird, übergeht. Von diesem Körper, der nicht als Mucin anzusehen ist und keine Eiweissreactionen gibt, wird weiter unten bei der dextrinartigen Substanz des Harns (thierisches Gummi) die Rede sein.

Im Uebrigen verlaufen die Verseifungen einander ziemlich ähnlich und es lagen nun verschiedene Möglichkeiten vor, die durch die Verseifung gewonnenen Lösungen weiter zu verarbeiten. Die Aufgabe war klar vorgezeichnet: es galt, das Reductions-, das Gährungs-, das Drehungsvermögen und die Bildung von Glukosazon zu prüfen und womöglich auch zu bestimmten Anschauungen über die quantitativen Beziehungen dieser verschiedenen Reactionen zu einander zu gelangen.

I. Traubenzucker.

Darstellung des Glukosazons aus den Benzoylverbindungen des Harns.

20 gr. des Estergemenges wurden mit 600 cbcm. absolutem Alkohol, in welchem 15 gr. metallisches Natrium gelöst waren, verseift. Die nach Entfernung der Benzoësäure und der Sulfate eingedampfte Lösung, die ziemlich stark braun

gefärbt war, wurde behufs Entfärbung und zur Entfernung von Beimengungen mit neutralem, dann mit basischem Bleiacetat versetzt. Der dadurch gebildete nicht unbeträchtliche Niederschlag wurde abfiltrirt, das Filtrat mit Schwefelwasserstoff behandelt und nach Durchleiten von Kohlensäure vom Schwefelblei abfiltrirt. Von den in dem Bleiniederschlag enthaltenen Substanzen wird später die Rede sein.

Die nach der Behandlung mit Schwefelwasserstoff fast völlig entfärbte Lösung wurde auf 100 cbcm. verdünnt. Sie zeigte in der 2 dcm. langen Röhre eine Rechtsdrehung von 1°, was einer Traubenzuckerlösung von ca. 1 $^0/_0$ entsprechen würde.

Zu dieser Lösung wurde nun hinzugefügt eine filtrirte Mischung von Phenylhydrazin 7,0, Natriumacetat (25 proc. Lösung) 20,0, Essigsäure 50,0 und das Ganze auf dem Wasserbade erhitzt.

Nach ungefähr 10 Minuten trübte sich die Flüssigkeit und es schieden sich makroskopisch sichtbare Krystalle aus, deren Menge beim Erkalten so zunimmt, dass die ganze Flüssigkeit davon erfüllt erscheint. Unter dem Mikroskop erwiesen sie sich als lange, feine, gelbe Nadeln, die radienförmig angeordnet sind und keinerlei amorphe Beimengungen zeigen. Sie wurden abfiltrirt und die Lösung ohne weiteren Zusatz von Phenylhydrazin aufs Neue auf dem Wasserbade erhitzt. Nach weiteren 20 Minuten schieden sich wieder gelbe Krystalle desselben Aussehens ab, die mit dem ersten Niederschlag vereinigt nach dem Trocknen 0,444 gr. wogen.

Ein dritter, vierter und fünfter Niederschlag nach $^1/_2$ bezw. 1 und $2^1/_2$ Stunden Erhitzen gewonnen, zeigen stark amorphe Beimengungen. Die Gesammtabscheidung betrug 0,750 gr.

100 cbcm. einer 1 proc. reinen Traubenzuckerlösung in genau derselben Weise mit Phenylhydrazin, Natriumacetat und Essigsäure behandelt, lieferten dagegen 1,5 gr. Phenylglukosazon. Auch hierbei liess sich die Wahrnehmung machen, dass nach Abfiltriren des zuerst entstandenen Niederschlages bei weiterem Erhitzen noch eine Ausscheidung von allerdings verunreinigtem Glukosazon eintritt.

Die ersten beiden Niederschläge des aus der Verseifung gewonnenen Glukosazons erwiesen sich als völlig rein. Es färbte sich bei ca. 200° dunkel und schmolz unter Gasentwickelung bei 204—205°. Dies ist nach E. Fischer[1]) die Schmelztemperatur des reinen Glukosazons.

Da trotz der Uebereinstimmung der Schmelzpunkte die Möglichkeit doch nicht völlig ausgeschlossen war, dass ein in der Zusammensetzung von dem Glukosazon verschiedener Körper vorlag, wurde auch eine Stickstoffbestimmung ausgeführt.

Dieselbe ergab aus 0,1234 gr. Substanz 16,7 cbcm. Stickstoff bei 16° und 751 mm. Barometerstand, entsprechend 15,58 % N.

	Berechnet:	Gefunden:
N	15,64	15,58

Das Ergebniss der Analyse zeigt, was durch die Schmelzpunktbestimmung bestätigt wird, dass reines Phenylglukosazon vorlag.

Es ist im Vorstehenden gezeigt worden, dass aus 20 gr. der Benzoylverbindungen des Harns 0,750 gr. Glukosazon erhalten werden. Für den Nachweis, dass aus diesen Benzoylverbindungen überhaupt Glukosazon erhalten werden kann, ist es natürlich nicht nöthig, 20 gr. des Estergemenges zu verwenden, zu dessen Darstellung etwa 10 l Harn erforderlich sind. Es gelingt vielmehr in jedem Fall reines Glukosazon nach dem geschilderten Verfahren abzuscheiden, wenn nur ein gr. des Benzoylesters aus dem Harn verarbeitet wird. Zu der Verseifung sind in diesem Falle nur 0,7 gr. Natrium nöthig, welche in 30 cbcm. Alkohol gelöst werden. Ist die Verseifung zu Ende, was nach kurzer Zeit der Fall ist, so wird die Lösung mit Essigsäure im Ueberschuss versetzt, durch Schütteln mit Aether die Bensoësäure entfernt, filtrirt und der Alkohol abgedunstet. Nun wird mit Bleiacetat gefällt, das Filtrat entbleit und mit einigen cbcm. Phenylhydrazin und überschüssiger Essigsäure auf dem Wasserbade erhitzt. Nach

---

[1]) Ber. d. d. chem. Ges., Bd. 17, S. 579.

ungefähr $^1/_2$ Stunde bilden sich besonders beim Erkalten die charakteristischen gelben Nadeln des Glukosazons.

Ich habe mich durch besondere Versuche überzeugt, dass bei jeder Verarbeitung der Benzoylverbindungen aus dem durchaus normalen Harn junger, gesunder Männer ausnahmslos durch die früher geschilderte Methode reines Glukosazon gewonnen werden kann. Es ist danach ausser Frage, dass ein Zucker, welcher Glukosazon liefert, ein Bestandtheil des normalen Harns ist.

Wie bekannt, ist hauptsächlich v. Jaksch[1]) zuerst für die ausgezeichnete Verwerthbarkeit der Osazonreaction im Harn eingetreten. Er gibt in seinem vortrefflichen Buch der klinischen Diagnostik[2]) die Vorschrift zur direkten Anstellung der Phenylhydrazinprobe im normalen Harn. v. Jaksch, der wie wohl die Mehrzahl der heutigen Kliniker eine geringe Glykosurie als einen normalen Zustand anerkennt, rühmt es der Phenylhydrazinprobe nach, dass sie im Stande sei, noch einen Gehalt von 0,1 °/₀ Zucker mit Sicherheit nachzuweisen. Aus normalem Harn haben v. Jaksch und Hirschl[3]) keine Glukosazonkrystalle erhalten und v. Jaksch meint daher, «wenn nur Spuren von Zucker im Harn vorhanden seien», so werde man bei der nach seiner Vorschrift angestellten Probe einzelne Glukosazonkrystalle niemals vermissen.

Darnach hält v. Jaksch die Phenylhydrazinreaction für diejenige Probe, welche vorzugsweise im Stande ist, die gewiss schwierig festzustellende Grenze jederzeit mit Sicherheit anzuzeigen, wo das Normale aufhört und das Pathologische beginnt. Ganz abgesehen von der Thatsache, dass es auf dem oben angegebenen Wege gelingt, aus jedem normalen Harn Osazonkrystalle in vollendeter Reinheit zu gewinnen, stehen diesen Beobachtungen und Schlüssen v. Jaksch's und Hirschl's doch auch gegentheilige Mittheilungen gegenüber. So stellte Schilder[4]) schon 1886 aus normalem Harn

---

[1]) Zeitschr. f. klin. Medicin 1886, S. 20 ff.; Prager med. Wochenschr. 1892, Nr. 30—33.

[2]) v. Jaksch, klin. Diagnostik, III. Aufl., S. 325, 330.

[3]) Zeitschr. f. phys. Chemie, Bd. 14, S. 382.

[4]) Wiener med. Blätter, Bd. 9, S. 13.

Osazonkrystalle dar, bei denen allerdings die Möglichkeit, dass es eine Verbindung der Glykuronsäure sei, nicht völlig ausgeschlossen war, Moritz[1]) jedoch hat bei der Untersuchung vieler normaler Harne Phenylglukosazonkrystalle fast niemals vermisst und Roos[2]) hat einige Jahre später den Harn von 16 gesunden jungen Männern genau nach der von v. Jaksch angegebenen Methode untersucht und in jedem Falle unverkennbare Glukosazonkrystalle erhalten.

Natürlich wird der Ausfall der Phenylhydrazinprobe des Harns, d. h. die grössere oder geringere Menge abgeschiedenen Osazons, immer einen gewissen Anhaltspunkt für die Beurtheilung des Zuckergehalts im Harn an die Hand geben, insofern man mit dieser Probe leicht erkennen kann, ob eine merkliche Steigerung des normalen Zuckergehalts im gegebenen Fall vorliegt.

Die Einwände, welche Kistermann[3]) und Andere gegen die Brauchbarkeit der Phenylhydrazinprobe in der von v. Jaksch angegebenen Weise erhoben haben, mit der Begründung, dass sie zu einer Verwechslung der Glukosazonkrystalle mit der von Thierfelder[4]) aus der Glykuronsäure dargestellten Phenylhydrazinverbindung führen könne, kommen für den von mir geführten Nachweis überhaupt nicht in Betracht, denn die Benzoylverbindungen sind aus dem Harn unter Bedingungen abgeschieden worden, unter welchen, wie Thierfelder gezeigt hat, die Glykuronsäure keine unlösliche Benzoylverbindung liefert.

Der Beweis für das Vorhandensein von Traubenzucker im normalen Harn ist natürlich durch die Bildung von Glukosazon nicht völlig erbracht, da Fructose und andere z. Th. erst synthetisch dargestellte Zucker, wie E. Fischer gezeigt hat, dasselbe Glukosazon liefern. Es bedurfte daher noch der weiteren Feststellung, dass der aus dem Harn gewonnene

---

[1]) Münchn. med. Wochenschr. 1889, Nr. 16.

[2]) Roos, über das Vorkommen von Kohlehydraten im Harn von Thieren. I.-D. Freiburg, 1891.

[3]) Arch. f. klin. Medicin, 50, S. 423.

[4]) Zeitschr. f. phys. Chemie, Bd. 11, S. 397.

Zucker gährungsfähig ist und rechts dreht, dass ferner die Rechtsdrehung bei der Vergährung verschwindet und dass er in dem Verhältniss zur Rechtsdrehung und zum Gährungsvermögen ein entsprechendes Reductionsvermögen für alkalische Kupferlösung besitzt. Für diese Feststellung wurden weitere Portionen des Benzoylesters aus dem Harn verarbeitet, worüber im folgenden weiter berichtet wird.

Gährung, optisches Verhalten und Reductionsvermögen des Zuckers aus normalem Harn.

Bei sämmtlichen Verseifungsversuchen, bei denen auf das optische Verhalten der gewonnenen Lösung geachtet wurde, konnte stets eine deutliche, messbare Rechtsdrehung constatirt werden. So drehte die 100 cbcm. betragende Lösung, aus welcher das eben beschriebene Glukosazon gewonnen wurde, in der 2 dcm. langen Röhre 1 Grad rechts. Bei einer anderen Bestimmung der Drehung einer 160 cbcm. betragenden Lösung wurde für die 2 dcm. lange Röhre 18 Minuten, bei einer dritten 35 cbcm. betragenden in derselben Röhre 65 Minuten abgelesen. Legen wir der Berechnung des Zuckergehalts die specifische Drehung des wasserfreien Traubenzuckers in wässriger Lösung zu Grunde, (52,5°) so stellte die erste dieser Lösungen eine 0,95 proc., die zweite eine 0,29 proc., die dritte eine 1,03 proc. Zuckerlösung dar.

Bei allen diesen Untersuchungen des Drehungsvermögens leistete die vorhergehende Fällung mit neutralem und basischem Bleiacetat für die Entfärbung insoferne vortreffliche Dienste, als nach der Entfernung des überschüssigen Bleis mittelst Schwefelwasserstoff meist eine nur ganz schwach gelb gefärbte, für die Untersuchung im Polarisationsapparate gut verwendbare, klare Flüssigkeit erhalten wurde.

Was sodann die Ermittelung des Gährungsvermögens dieser rechtsdrehenden, glukosazonliefernden Lösungen anlangt, so wurde auch hierüber eine Reihe von Versuchen angestellt. Die neutralen oder schwach sauren Lösungen wurden mit wenig geschlemmter Hefe über Quecksilber aufgestellt. Zur Controle wurden jeweils reine Traubenzuckerlösungen von

dem durch Drehung oder Reduction ermittelten Gehalte der zu untersuchenden, aus Harn gewonnenen Lösung ebenfalls mit Hefe über Quecksilber angesetzt. Es zeigte sich, dass die durch Verseifung erhaltene Lösung sich in Bezug auf ihr Gährungsvermögen von einer reinen Traubenzuckerlösung in keinem wesentlichen Punkte unterschied. Die Gährung begann bald gleichzeitig, bald in der einen, bald in der andern früher. Das eine Mal entwickelte die aus Harn gewonnene Zuckerlösung, das andere Mal die Controlflüssigkeit rascher Kohlensäure und ebenso zeigten sich in der Zeitdauer, welche die einzelnen Lösungen zur völligen Vergährung, d. h. bis zum Aufhören von Gasentwicklung bedurften, geringe Differenzen. Wesentliche Unterschiede wurden jedoch, wie gesagt, bei der Gährung selbst nicht beobachtet.

Es galt nun, die quantitativen Beziehungen zwischen Gährung und Drehung zu ermitteln und es wurden zu diesem Zweck 20 cbcm. einer aus Harn gewonnenen Zuckerlösung, welche nach der Drehung eine 0,5 proc. Traubenzuckerlösung repräsentirte, mit Hefe über Quecksilber aufgestellt.

In einer zweiten Röhre wurden 20 cbcm. einer 0,5 proc. reinen Traubenzuckerlösung ebenfalls mit Hefe angesetzt.

Um eine durch etwaige Selbstgährung der Hefe entstehende Fehlerquelle auszuschliessen, wurde in eine dritte Röhre Hefe allein gebracht.

Die erste Röhre, die aus Harn gewonnene Zuckerlösung enthaltend, lieferte 11 cbcm., der Controlversuch 14 cbcm. Kohlensäure. Danach entspräche der durch die Gährung ermittelte Gehalt jener 20 cbcm. dem einer 0,4 proc. Traubenzuckerlösung.

Die quantitativen Resultate der Gährung und Drehung dürfen demnach als annähernd übereinstimmend betrachtet werden.

Von den Reactionen des Traubenzuckers bleibt uns jetzt nur noch die Reduction zu besprechen übrig. Eine solche kann in der durch Verseifung des Benzoylesters aus Harn gewonnenen Flüssigkeit noch während der Einwirkung des

Natriumäthylats auf den Ester mit Leichtigkeit nachgewiesen werden.

Mehr als der qualitative Nachweis interessirt uns daher die Beziehung der quantitativen Ergebnisse des Reductionsvermögens zu den durch Drehung oder Gährung ermittelten Werthen.

Zu diesem Zweck wurden 25 gr. Benzoylester des Harns verarbeitet.

Die auf 35 cbcm. eingeengte Zuckerlösung, die etwas gelb gefärbt, aber völlig klar war, zeigte in der 1 dcm. langen Röhre eine Rechtsdrehung von ca. 30 Minuten, entsprechend einer 0,95 proc. Traubenzuckerlösung.

15 cbcm. dieser Lösung wurden auf's zehnfache verdünnt. Davon waren 51 cbcm. erforderlich, um 20 cbcm. frisch bereiteter Fehling'scher Lösung zu reduciren. Die Bestimmung mittelst Reduction ergibt somit einen Gehalt an Traubenzucker von 1,96 %.

Wie man sieht, stellt der durch Titration ermittelte Werth fast genau das Doppelte des aus der Drehung berechneten dar. Auch andere Bestimmungen haben dieses Ueberwiegen des Reductionsvermögens über das Drehungs- und über das Gährungsvermögen durchaus bestätigt.

Diese Thatsache lässt sich nur durch zweierlei Annahmen erklären: entweder es ist in der ursprünglichen Lösung eine linksdrehende, reducirende Substanz vorhanden, welche die Rechtsdrehung vermindert oder ein nicht gährender, reducirender Körper. Wäre die erstere Annahme richtig, so müsste nach der Gährung eine Linksdrehung auftreten. Eine solche ist aber niemals beobachtet worden. Es bleibt somit nur die Annahme eines nichtgährungsfähigen, reducirenden Kohlehydrats übrig. Auf dasselbe wird weiter unten näher eingegangen werden.

Hier soll als Ergebniss der bisherigen Untersuchung zusammenfassend betont werden, dass aus den geschilderten Reactionen: der Reduction von Kupfersulfat in alkalischer Lösung, des in den quantitativen Ergebnissen übereinstim-

menden Gährungs- und Drehungsvermögens, sowie endlich der Bildung von Phenylglukosazon, sich mit Nothwendigkeit die Schlussfolgerung ergibt, dass in den untersuchten Lösungen Traubenzucker enthalten war, mit anderen Worten, dass Traubenzucker ein constanter Bestandtheil jedes normalen Harns ist.

Die Versuchung liegt nahe, aus den gewonnenen Resultaten bestimmte Zahlen für die Mengenverhältnisse abzuleiten, in denen der Traubenzucker bezw. die reducirenden Substanzen, soweit sie Kohlehydrate sind, im normalen Harn auftreten. Gibt es doch gerade für die reducirenden Substanzen des Harns, soweit sie zu den Kohlehydraten gehören, zum Leidwesen aller Kliniker wohl kaum eine zuverlässige Methode der quantitativen Bestimmung, die besonders auch Harnsäure, Kreatinin, Glykuronsäure und eine Reihe anderer Körper mit Sicherheit ausschliesst. Trotzdem die Benzoylchloridmethode in diesem Sinne, wenn ich so sagen darf, einen exclusiven Charakter an sich hat und es auf dem Wege der Verseifung auch ermöglicht, die reducirenden Kohlehydrate von den nichtreducirenden zu trennen (eine Thatsache, auf die wir sogleich zu sprechen kommen werden), ja sogar den Traubenzucker von den übrigen reducirenden Kohlehydraten zu trennen, so lehrt doch eine kurze Erwägung, dass an eine quantitative Bestimmung der Kohlehydrate des Harns, der reducirenden sowohl, wie der nicht reducirenden, ernstlich nicht gedacht werden kann. Meine eigenen Versuche sind viel zu wenig umfangreich, um derartige Schlussfolgerungen zu gestatten; aber auch die Methode an sich ist schon deshalb für diese Zwecke unzureichend, da bei der Verseifung des Benzoylniederschlags Verluste unvermeidlich sind. Immerhin wäre es nicht ohne Interesse, die aus grösseren Versuchsreihen ermittelten Resultate kennen zu lernen, da ja die gefundenen Mengen jedenfalls die Minimalwerthe darstellen.

v. Udranszki[1]), der sich um die Lösung dieser Fragen so grosse Verdienste erworben hat, suchte diesen Verhält-

---

[1]) v. Udránszki, über die periodischen Schwankungen der phys. Kohlehydratausscheidung, Festschrift für Korányi, Budapest 1891.

nissen näher zu kommen, [illegible] der Reduction [illegible]. Er [illegible] zur Entfernung von Harnsäure und Kreatinin [illegible] bestimmte [illegible] Fehling'scher Lösung [illegible] an reducirenden Substanzen. Er [illegible] Tagesmenge der ausgeschiedenen K[illegible] bis [illegible]. [illegible] sich jedoch [illegible], so liesse sich vielleicht auf [illegible] Wege [illegible] über das Verhältniss [illegible] cirenden K[illegible] des Harns [illegible].

Ich habe [illegible]:

I. [illegible]
II. [illegible]
III. [illegible]
IV. [illegible]
V. [illegible]
VI. [illegible]

Auf [illegible] rechnet [illegible]

[illegible]

Diese [illegible] Seegen [illegible]

II. [illegible] des Harns [illegible]

[illegible] Harns [illegible]

[illegible]

[illegible]

Annahme von anderer Seite geltend gemachten Erfahrungen und Thatsachen nicht unterschätzt werden. Es ist also die von Wedenski aufgestellte, aber nicht ausreichend bewiesene Behauptung bestätigt, dass dieses Estergemenge Traubenzucker enthalte. Wie schon mehrfach erwähnt, hat Wedenski noch auf ein weiteres, in dem Benzoylniederschlag enthaltenes Kohlehydrat aufmerksam gemacht, das er nach den damit angestellten Reactionen für «thierisches Gummi» zu halten geneigt war.

Er liess verdünnte Natronlauge in der Hitze längere Zeit auf den Benzoylester einwirken und fand, dass die vom nichtverseiften Reste abfiltrirte Lösung mit Alkohol eine Fällung gab. Diesen Niederschlag löste er in Wasser auf, kochte mit verdünnter Schwefelsäure und constatirte, dass nunmehr die Lösung Kupfersulfat reducirte.

Salkowski hat besonders auch diesen Theil der Wedenski'schen Untersuchungen seiner abfälligen Kritik unterzogen und den Beweis für das Vorhandensein von «thierischem Gummi» als nicht erbracht erklärt.

Man begegnet nun bei jeder mit Natriumäthylat vorgenommenen Verseifung des Benzoylniederschlags aus Harn einer dextrinartigen Substanz.

Hat man nämlich in der durch Verseifung des Harnbenzoats gewonnenen, mit Schwefelsäure versetzten Lösung mit Alkohol die Salze gefällt und abfiltrirt, und dampft nun die alkoholische Lösung weiter ein, so macht sich bei einem gewissen Grad der Concentration eine Ausscheidung von amorphen, bräunlichen Massen bemerkbar. Versetzt man nun noch einmal mit viel starkem Alkohol, so entsteht wieder eine nicht unbeträchtliche Fällung, die neben krystallinischen Substanzen auch amorphe Beimengungen erkennen lässt. Die Filtration dieses zweiten Alkoholniederschlages erfolgt auffallend langsam, sie wird jedoch erleichtert durch längeres Erwärmen auf dem Wasserbade und nachheriges Stehenlassen. Der Niederschlag löst sich zum grössten Theile in heissem Wasser und wird aus dieser Lösung durch Alkohol wieder amorph abgeschieden. Die wässrige Lösung reducirt Kupfersulfat in

alkalischer Lösung auch nach längerem — bis halbstündigem — Kochen nicht im geringsten, wohl aber gibt sie eine intensive Furfurolreaction, die sich auch durch ihr spektroskopisches Verhalten mit Sicherheit als solche nachweisen lässt. Eiweissreactionen gibt die Lösung des Niederschlags nicht, weder ist mit Essigsäure und Ferrocyankalium eine Fällung noch beim Kochen mit Millons Reagens die charakteristische Rothfärbung zu erzielen.

Dagegen ist als wichtigste Eigenschaft dieses Körpers hervorzuheben, dass derselbe durch längeres Kochen mit verdünnter Schwefelsäure in eine Kupfersulfat reducirende Substanz verwandelt wird. Erhitzt man nämlich den durch mehrmaliges Lösen in Wasser und Ausfällen mit absolutem Alkohol nach Möglichkeit gereinigten Niederschlag mit dem dritten Theil verdünnter etwa 14proc. Schwefelsäure auf dem kochenden Wasserbad, so lässt sich nach einer Viertelstunde noch keinerlei Einwirkung constatiren. Entnimmt man dagegen nach einer weitern Viertelstunde eine Probe und erhitzt wieder mit Fehling'scher Lösung so tritt nach minutenlangem Kochen eine geringe, aber deutliche Ausscheidung von rothem Kupferoxydul auf. Diese Fähigkeit, Kupfersulfat zu reduciren, nimmt von Viertelstunde zu Viertelstunde in augenfälliger Weise zu, so dass nach ca. dreistündigem Kochen mit Schwefelsäure eine sehr beträchtliche Reductionswirkung nachzuweisen ist.

Da Untersuchungen vorliegen, welche dafür zu sprechen scheinen, dass im menschlichen Harn auch Glykogen[1]) auftreten kann, so wurde eine Probe der in Wasser gelösten Substanz mit einigen cbcm. schwacher Jodlösung versetzt, es ergab sich jedoch keinerlei charakteristische Färbung. Ausserdem ist Glykogen durch Kochen mit Schwefelsäure ungleich rascher zu verzuckern. Eine Lösung von 0,5 gr. Glykogen in 50 cbcm. Wasser, mit 15 cbcm. 14proc. Schwefelsäure auf dem siedenden Wasserbade erhitzt, zeigte schon nach 10 Minuten eine sehr erhebliche Reduction der Fehling-schen Lösung.

---

[1]) Reichard, Archiv der Pharm.. 5, 502. Leube, Virchow's Archiv, 113, 391.

Es ist unzweifelhaft, dass auf diesem Wege der Isolirung des in Rede stehenden Körpers grosse Verluste kaum zu vermeiden sind. Denn auf der einen Seitė ist derselbe in Alkohol, wenn auch nur in geringem Grade löslich, auf der andern Seite werden jedenfalls schon bei der ersten Fällung der verseiften Lösung mittelst Alkohol erhebliche Mengen dieser Substanz niedergeschlagen, gehen aber in der grossen Menge von Salzen, von denen sie wegen der gleichen Löslichkeitsverhältnisse schwer zu isoliren sind, verloren. Auf eine quantitative Bestimmung des Körpers musste daher verzichtet werden.

Immerhin kann es keinem Zweifel unterworfen sein, dass dieser in Wasser lösliche, in Alkohol unlösliche Körper, der keinerlei Reduction der Fehling'schen Lösung, wohl aber eine sehr starke, auch spektroskopisch sichergestellte Furfurolreaktion gibt und ausserdem mit Schwefelsäure längere Zeit gekocht Kupfersulfat in alkalischer Lösung reducirt — es kann, wie gesagt, nicht zweifelhaft sein, dass wir hier eine dextrinartige Substanz vor uns haben.

Wir erhalten somit auch auf diesem Wege eine Bestätigung der Wedenski'schen Angaben. Einstweilen hat eine erneute Nachprüfung seiner Mittheilungen zunächst ihre Richtigkeit bestätigt. Die Wedenski'schen Angaben lassen dem, der seine Untersuchungen wiederholen will, einen gewissen Spielraum, was die Wahl der Concentration der zu verwendenden Spaltungsmittel und die Dauer ihrer Einwirkung auf den Ester anlangt. Bei der Nachprüfung seiner Ergebnisse wurde in der Weise vorgegangen, dass 12 gr. aus Harn gewonnen Benzoylesters mit 150 cbcm. Wasser und 100 cbcm. 12proc. Natronlauge eine halbe Stunde auf dem kochenden Wasserbade erhitzt wurden. Die stark braun gefärbte Lösung wird von dem unverseiften Ester abfiltrirt, das Filtrat mit concentrirter Essigsäure angesäuert und mit Alkohol versetzt. Es entsteht eine nicht unbeträchtliche Trübung und bei längerem Erwärmen auf dem Wasserbad scheiden sich amorphe, flockige Massen ab, die z. Th. an den Glaswänden kleben bleiben. Dieselben werden abfiltrirt, was rasch und leicht erfolgt, der

Niederschlag und die am Glase haftenden Mengen in wenig heissem Wasser gelöst und auf's neue mit viel Alkohol gefällt. Auch diesmal erfolgt die Abscheidung in der nämlichen Weise. Der Niederschlag wird wieder in Wasser gelöst und ist stark braun gefärbt, so dass auf eine Bestimmung etwa vorhandenen optischen Verhaltens verzichtet werden musste. Dagegen gibt die Lösung sehr starke Furfurolreaction und mit Kupfersulfat und Natronlauge einen blauen, flockigen Niederschlag, der sich auch beim Erhitzen nicht schwärzte. Eine Reduction von Kupfersulfat tritt dagegen auch bei lange fortgesetztem Kochen selbst nicht in Spuren auf.

Die Lösung, die noch Salze, vor allem Phosphate enthält, wurde nun mit verdünnter Schwefelsäure behandelt, in der Weise, dass auf 50 cbcm. der Lösung 15 cbcm. 12proc. Schwefelsäure zugesetzt wurden. Beim Erhitzen auf dem Wasserbade scheidet sich eine geringe Menge brauner, amorpher Substanzen aus, die insofern Aehnlichkeit mit den von v. Udránszki beschriebenen Huminsubstanzen haben, als sie in Alkalien löslich sind. Dieselbe Ausscheidung wurde übrigens genau in der gleichen Weise auch bei dem oben beschriebenen, mit Alkohol aus der verseiften Lösung gefällten Körper beobachtet.

Von der mit Schwefelsäure kochenden Flüssigkeit wurden von Viertelstunde zu Viertelstunde Proben entnommen und auf ihre Fähigkeit, Kupfer zu reduciren, geprüft. Nach der ersten Viertelstunde war keinerlei Reduction der Fehling'schen Lösung nachzuweisen, wohl aber trat dieselbe in geringem Grade nach einer halben Stunde auf und nahm von diesem Zeitpunkt an langsam aber stetig zu. Während die Reduction Anfangs nur nach längerem Kochen eintrat, erfolgte sie nach dreistündiger Einwirkung der Schwefelsäure rasch und reichlich. Auch bei der Verwendung des Nylander'schen Reagens trat nach kurzem Kochen eine Reduction und Schwarzfärbung auf.

Es ist keine Frage, dass der durch Natronlauge nach dem Wedenski'schen Verfahren abgespaltene Körper identisch ist mit der oben beschriebenen, durch Natriumäthylat ge-

wonnenen und durch Alkohol gefällten dextrinartigen Substanz. Dies ist bewiesen durch die gleichen Löslichkeitsverhältnisse und das gleiche Verhalten gegen α-Naphthol und Schwefelsäure, wie gegen alkalische Kupfer- und Wismuthlösung.

Sieht man sich in der Literatur nach einem, als im normalen Harn vorhandenen, beschriebenen Körper um, mit dem diese Substanz allenfalls identificirt werden könnte, so muss sofort die grosse Aehnlichkeit zwischen diesem Dextrin des Harns und dem von Landwehr beschriebenen sg. «thierischen Gummi» auffallen. Eine absolut sichere Identificirung beider Körper ist freilich vorderhand nicht möglich, denn dazu fehlt es an der Kenntniss specifischer Charakteristika jenes «thierischen Gummis». Was Landwehr[1]) als Kennzeichen seines Körpers angibt, die Unlöslichkeit in Alkohol und die Bildung eines flockigen, sich beim Kochen nicht schwärzenden blauen Niederschlages mit Kupfersulfat wurde auch bei diesem Harndextrin beobachtet. Bei der geringen Menge derselben verboten sich aber weitere Untersuchungen von selbst und es muss daher in das Belieben eines jeden Einzelnen gestellt werden, ob er die von Wedenski und mir beschriebene Substanz Harndextrin oder thierisches Gummi benennen will.

Was bis jetzt an Eigenschaften dieser dextrinartigen Substanz sich ermitteln liess, ist Folgendes:

1. Sie wurde bis jetzt noch nicht völlig frei von Verunreinigungen mit Salzen, besonders Phosphaten, gewonnen.
2. Sie wird aus ihrer wässerigen Lösung durch Alkohol gefällt und bildet beim Erwärmen einen flockigen Niederschlag.
3. Diese Abscheidung ist keine vollständige.
4. Sie gibt noch in erheblicher Verdünnung deutliche Furfurol-Reaction.
5. Sie reducirt die Fehling'sche Lösung nicht.

---

[1]) Centralbl. f. die med. Wissensch. 1885, Nr. 21.

6. Sie gibt mit Kupfersulfat und Natronlauge einen blauen, flockigen, beim Kochen sich nicht schwärzenden Niederschlag.
7. Sie lässt sich durch verdünnte Schwefelsäure in eine die alkalische Kupferlösung reducirende Substanz überführen.
8. Diese Verzuckerung erfolgt relativ langsam.
9. Sie gibt keine Glykogen- und keine Eiweissreactionen.
10. Sie gibt mit Benzoylchlorid und Natronlauge einen in Wasser unlöslichen Niederschlag.

Ich habe es nicht unterlassen, über das Vorhandensein dieses Körpers in jedem normalen Harn und seine Mengenverhältnisse noch auf anderem Wege mir Aufschluss zu verschaffen.

Sowohl eingedampfter als frischer Harn wurde jeweils mit dem mindestens vierfachen Volumen absoluten Alkohols versetzt, dann auf dem Wasserbad bis zur flockigen Ausscheidung des Niederschlags erwärmt und nach dem Erkalten abfiltrirt. Der mit Alkohol ausgewaschene Niederschlag wird in wenig Wasser gelöst und die von den nichtgelösten Salzen abfiltrirte Lösung in der Weise benzoylirt, dass auf 1 l Harn 40 cbcm. Benzoylchlorid und die zehnfache Menge Natronlauge verwendet werden. Dabei ist jedoch zu beachten, dass man den Esterniederschlag nicht lange mit der Natronlauge stehen lassen darf, da sich der Benzoësäureester des Dextrins mit Natronlauge relativ rasch verseift.

Besonders bei Verarbeitung nichteingedampften Harns habe ich rasch und sofort klar filtrirende Mischungen erhalten.

Es wurde nun an Ester gefunden für 1000 cbcm. Harn:

aus eingedampftem:	nicht eingedampftem Harn:
1. 0,086 gr.	7. 0,063 gr.
2. 0,102 »	8. 0,080 »
3. 0,041 »	—
4. 0,120 »	—
5. 0,125 »	—
6. 0,062 »	—

Im Mittel kommen also auf 100 cbcm. Harn bei Verwendung eingedampften Harns 0,008, bei frischem Harn 0,007 gr.; bei ersterem schwankt die Menge zwischen 0,004 und 0,012 gr., also um das Dreifache.

Der getrocknete Niederschlag dieses Esters gibt Furfurolreaction, doch ist im Spektroskop das Roth durch eine braune Nebenfärbung etwas verdeckt und undeutlich, tritt aber beim Erhitzen im kochenden Wasserbad deutlicher hervor.

Eine Kohlenstoff- und Wasserstoffbestimmung konnte nicht ausgeführt werden, da der Körper sich als aschehaltig erwies. Die Salze bestanden im Wesentlichen aus Phosphaten.

Aus den angeführten Bestimmungen lassen sich bestimmte Schlüsse auf die Mengen, in welchen die Substanz im Harne erscheint, natürlich nicht machen. Denn einerseits ist der Niederschlag aschehaltig, auf der anderen Seite ist zu bedenken, dass durch Alkohol dieses Harndextrin aus wässerigen Lösungen bezw. aus dem Harne niemals vollständig abgeschieden werden kann.

Für quantitative Bestimmungen erweist sich keiner der im Vorhergehenden beschriebenen Wege der Isolirung des Körpers als brauchbar. Wer sich von dem Vorhandensein des Dextrins im normalen Harn überzeugen will, wird am besten der Wedenski'schen Methode sich bedienen. Es empfiehlt sich hierbei nur, die durch Verseifung mit Natronlauge gewonnene Lösung vor dem Fällen mit Alkohol mit starker Essigsäure anzusäuren.

III. Die neben Traubenzucker und dextrinartiger Substanz im Benzoylester des Harns enthaltenen Kohlehydrate.

Da wie oben gezeigt worden ist, eine durch Verseifung von reinem Traubenzuckerbenzoylester gewonnene Zuckerlösung vollständig mit Hefe vergährt, so zwar, dass in der vergohrenen Lösung durch keine der bekannten Zuckerreactionen mehr ein Kohlehydrat nachgewiesen werden kann, so erhellt aus den zuletzt besprochenen Gährungsversuchen unzweideutig, dass neben dem Traubenzucker im normalen Harn noch ein Kohlehydrat enthalten sein muss, welches sich von diesem

vor Allem durch den Mangel des Gährungsvermögens unterscheidet.

Um näheren Aufschluss über diesen Körper zu gewinnen, wurden mehrere Portionen des Benzoylniederschlags aus dem Harn verseift, wobei die gewonnene traubenzuckerhaltige Flüssigkeit, welche in diesen Fällen nicht mit Bleiacetat behandelt worden war, mit frischer Hefe zur Vergährung gebracht wurde. Nach Beendigung der Gährung wurde filtrirt, das Filtrat zuerst mit neutralem, dann mit basischem Blei gefällt, wobei sich jedesmal ein Niederschlag bildete. Das Filtrat wurde entbleit, die klare, schwach gelblich gefärbte Flüssigkeit reducirte Kupfersulfat. Einmal wurde mit einer solchen Lösung eine schwache Rechtsdrehung constatirt. Mit Phenylhydrazin wurde ein gut kristallisirendes Osazon erhalten, dessen mikroskopisches Bild grosse Aehnlichkeit mit dem Glukosazon der Dextrose darbot, sich aber von demselben durch den niedriger liegenden Schmelzpunkt: 175°—180° unterschied. Ausserdem gab die Flüssigkeit stets eine intensive Furfurolreaction, die in einem Falle bei Verarbeitung von 20 gr. Harnester in 30 cbcm. dem Furfurolwerth einer 1 proc. Traubenzuckerlösung entsprach. Eine vergohrene reine Traubenzuckerlösung zeigte nur eine schwache Andeutung von Furfurolreaction. Auch gab die Lösung dieses Kohlehydrats mit Natronlauge und Benzoylchlorid einen in Wasser unlöslichen Niederschlag.

Welchem der bekannten Kohlehydrate dieser im Harnbenzoylester enthaltene Körper entspricht, muss zunächst noch dahingestellt bleiben. Von den durch Salkowski[1]) im Harn gefundenen Pentosen unterscheidet er sich durch den höher liegenden Schmelzpunkt seines Osazons: der des Osazons der Pentose liegt bei 159°.

Bei mehreren der früher geschilderten Versuche wurde erwähnt, dass die mehr oder weniger gefärbten Flüssigkeiten durch Behandlung mit neutralem oder basischem Bleiacetat entfärbt und gereinigt wurden. Es war von Interesse, festzu-

---

[1]) Centralblatt f. d. medic. Wissensch. 1892, Nr. 19 und 32.

stellen, ob diese Bleiniederschläge, welche in den von dem Harndextrin befreiten Lösungen erhalten wurden, Zucker oder zuckerartige Körper enthielten. Für eine derartige Feststellung ist vor allen andern Reactionen bei Ausschluss von Eiweisssubstanzen die Furfurolreaction zu verwerthen. Als die Bleiniederschläge durch Schwefelwasserstoff zerlegt wurden, ergab die vom Schwefelblei abfiltrirte Flüssigkeit nur eine schwache Furfurolreaction. Wurde diese Lösung von neuem mit Bleiacetat gefällt und der Niederschlag wie oben zerlegt und mit α-Naphthol und Schwefelsäure geprüft, so trat keine Furfurolreaction mehr ein, ein Beweis, dass in der Bleifällung Kohlehydrate nicht enthalten waren. Ausser sog. Extraktivstoffen enthält die Bleifällung stets merkliche Mengen von Phosphorsäure.

Es dürfte hier der Ort sein, auf die Untersuchungen Luther's[1]) über das Vorkommen von Kohlehydraten im normalen Harn einzugehen. Er benützte zu diesen Untersuchungen die Furfurolreaction in der Weise, wie sie von v. Udránszki als quantitative Methode ausgebildet worden ist. Damit combinirte er die Gährung des Harns mit Hefe so zwar, dass er zunächst im frischen Harn mit α-Naphthol und Schwefelsäure die Menge der vorhandenen Furfurol liefernden Substanzen bestimmte, alsdann den Harn mit Hefe vergähren liess und wieder quantitative Furfurolreaction anstellte. Das Plus an Furfurol liefernder Substanz des frischen Harns gegenüber dem vergohrenen bezog Luther auf Traubenzucker, den grössten Theil des nicht gährungsfähigen Restes auf thierisches Gummi. Nach dem damaligen Stand unserer Kenntnisse war diese Auffassung Luther's nicht ganz ohne Berechtigung. Nach Luther verhält sich die Gesammtkohlehydratausscheidung zu der Ausscheidung von thierischem Gummi wie 23 : 13[2]). Die Gesammtkohlehydrate zerfallen demnach zu annähernd gleichen Theilen in Traubenzucker und thierisches Gummi.

Nachdem jetzt erwiesen ist, dass ausser dem gährungsfähigen Traubenzucker und dem Harndextrin im normalen

---

[1]) Luther, über das Vorkommen von Kohlehydraten im norm. Harn, I.-D., Berlin 1890.

[2]) Luther, S. 43.

Harn noch mindestens eine Furfurol liefernde Substanz vorhanden ist, so darf jener nach dem Gähren des Harns übrigbleibende Rest nicht allein auf die dextrinartige Substanz bezogen werden. Ihre Menge ist daher geringer anzuschlagen, als dies Luther gethan hat. Ich möchte nicht unerwähnt lassen, dass bei der Untersuchung von Lösungen, die nur geringe Mengen von Kohlehydraten enthalten, sich mir, wie Luther und v. Udránszki, die Furfurolreaction als überaus zweckdienlich erwiesen hat. Sie ermöglicht es, ohne dass man dabei von der Lösung etwas Nennenswerthes verliert, rasch eine annähernd quantitative Ermittlung des Kohlehydratgehalts anzustellen und Aenderungen desselben zu bestimmen.

Während wir nun dazu gelangt sind, einige der im Harnbenzoylester enthaltenen Körper auf Grund ihrer Reactionen unter die bereits bekannten Kohlehydrate einzureihen, darf nicht verschwiegen werden, dass es bis jetzt nicht gelungen ist, den von allen Untersuchern der Benzoylverbindungen des Harns constatirten Stickstoffgehalt desselben zu erklären. Salkowski bezog ihn auf Eiweisssubstanzen, J. W. L. Thudichum auf das Urochrom. Eine Nachprüfung[1]) auf erstere Substanzen hat nur ein negatives Resultat ergeben, das «Urochrom» dagegen war mir nicht zugänglich.

Von einer Verunreinigung im gewöhnlichen Sinn, von Beimischung einer anorganischen Substanz oder von Benzamid kann ebenfalls keine Rede sein. Dies geht aus folgender Thatsache hervor.

Eine durch Verseifung mit Natriumäthylat aus 28 gr. Benzoylester des Harns gewonnene, zum Syrup eingedampfte Lösung wurde in wenig absolutem Alkohol gelöst und mit wasserfreiem Aether versetzt. Dabei entstand eine weissliche Trübung, aus der sich eine amorphe halbflüssige Masse abschied. Nach einiger Zeit wurde die Flüssigkeit abgegossen, der amorphe Niederschlag in wenig Wasser gelöst. Die Lösung gab Furfurolreaction, drehte schwach rechts und reducirte alkalische Kupferlösung. Sie wurde über Schwefel-

[1]) Zeitschr. f, phys. Chemie, Bd. 18, S. 204.

säure zur Trockne verdunstet, das Gewicht betrug 0,788 gr. Bei der Benzoylirung in alkalischer Lösung entstand eine reichliche Abscheidung von Benzoylverbindungen, welche zuerst weich sind, nach dem Trocknen über Schwefelsäure erhärten und unter Gasentwicklung bei 120° schmelzen. Eine Stickstoffbestimmung ergab 2,0% N.

Im Uebrigen konnte auch auf diesem Wege ein näherer Aufschluss über den stickstoffhaltigen Körper nicht gewonnen werden. Nach den bisherigen Ermittelungen ist es nicht unwahrscheinlich, dass der Stickstoffgehalt einem Körper angehört, welcher ausserdem Kohlehydratreactionen zeigt.

Einen gewissen Anhaltspunkt für die Classificirung des stickstoffhaltigen Bestandtheils des Harn-Benzoylesters scheinen übrigens die Untersuchungen Schmiedeberg's[1]) über die interessanten Körper an die Hand zu geben, welche sich aus Knorpelgewebe darstellen lassen und zum Glykosamin in Beziehung stehen, amidartige Verbindungen, welche Derivate von Zuckerarten sind. Es ist nicht undenkbar und muss jedenfalls in Erwägung gezogen werden, dass unser stickstoffhaltiger, benzoylirbarer Körper in näherer Beziehung zu jenen Substanzen steht, die Schmiedeberg kennen gelehrt hat. Dafür spricht die Furfurolreaction, der Stickstoffgehalt, die Reduction der alkalischen Kupferlösung, die Rechtsdrehung, sowie die Leichtigkeit, mit welcher der Stickstoff beim Erhitzen mit Alkalien in Form von Ammoniak abgespalten wird.

Meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. E. Baumann, spreche ich für die überaus liebenswürdige Unterstützung, die er mir bei Ausführung vorliegender Arbeit jederzeit mit Rath und That hat angedeihen lassen, meinen tiefgefühlten Dank aus.

---

[1]) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharm. 28, S. 354—404.

Untersuchung des Fettes von Frauenmilch.

von

Ernst Laves.

(Der Redaction zugegangen am 17. März 1894.)

Ueber die Zusammensetzung des Fettes der Frauenmilch sind bisher nur unzureichende Untersuchungen angestellt worden. Diese Lücke in der Untersuchung findet wohl darin ihre Erklärung, dass es sehr schwierig ist, in den Besitz grösserer Mengen des Fettes zu gelangen.

Mir standen für vorliegende Untersuchung 116,0 Fett von Frauenmilch zur Verfügung, welches von Herrn Professor Julius Lehmann in Dresden bei einer längeren Untersuchungsreihe über Frauenmilch als Nebenproduct gewonnen und an Herrn Prof. Hoppe-Seyler übersendet, von demselben mir zur Untersuchung übergeben war.

Es kam vor Allem darauf an, die chemische Zusammensetzung des Fettes zu vergleichen mit der des Butterfettes von Kuhmilch. Von einer exacten Trennung der hochmolekularen Säuren des Fettes musste Abstand genommen werden, da aus den Untersuchungen von Heintz hervorgeht, dass dieselbe nur möglich ist bei Inangriffnahme von 1 bis mehrere Kilos Fett.

An niedere Fettsäuren aber erwies sich das Fett so arm, dass auf Reindarstellung der einzelnen verzichtet werden musste.

Es wurde die Trennung der einzelnen Fettsäuren durchgeführt, soweit es das Material gestattete, und das Molekulargewicht der einzelnen Fractionen bestimmt.

Ferner wurde der Gehalt des Fettes an flüchtigen, an wasserlöslichen und an ungesättigten Säuren bestimmt. Schliesslich wurden auch die in der Nahrungsmittelchemie üblichen Methoden zur Prüfung des Fettes herangezogen. 96,0 filtrirtes, trockenes Fett aus Frauenmilch vom Schmelzpunkte 30—31° C. wurde mit 50,0 Kaliumhydroxyd, 80 cbcm. Wasser und 200 cbcm. Alkohol durch mehrstündiges Erhitzen in einen Kolben mit aufgesetztem Rückflusskühler verseift; hierauf der Alkohol abdestillirt. Der Rückstand wurde mit überschüssiger verdünnter Schwefelsäure versetzt, und die darin enthaltenen flüchtigen Säuren im Dampfstrome übergetrieben.

Nachdem ca. 5 l übergegangen waren, hörte das Destillat auf, sauer zu reagiren. Es wurden sodann die flüchtigen Fettsäuren, welche im Rohre des Liebig'schen Kühlers haften geblieben waren, mit dem Destillat vereinigt, und die Destillation unterbrochen. Die im Wasser gelösten flüchtigen Fettsäuren trennte man durch Filtration von den ungelösten; erstere verbrauchten 56 cbcm. $^1/_{10}$ Normal-Barytlauge, letztere — mitsammt Filtrum in wenig Aether und in Wasser vertheilt — 40,5 cbcm. $^1/_{10}$ Normal-Barytlauge.

In Summa waren also aus 96,0 Fett an flüchtigen Fettsäuren erhalten worden, entsprechend 96,5 cbcm. $^1/_{10}$ Normallauge. Das Baryumsalz der flüchtigen wasserunlöslichen Fettsäuren wurde mit Phosphorsäure zersetzt, die Fettsäuren mit Aether extrahirt. Nach dem Verdunsten des Aethers hinterblieben die Säuren als feste Masse vom Schmelzpunkte 16 bis 17° C.

Sie wurden mit Barytlauge gesättigt und mit obigem neutralisirten Destillat vereinigt, welches man auf dem Wasserbade zur Trockne eindampfen liess, nachdem die in den 5 l erhitzter Flüssigkeit unlöslichen Barytsalze auf einem Filtrum gesammelt waren (Portion III = 1,2 gr.)

Beim Eindampfen wurde ein geringer Ueberschuss von Barytlauge zugesetzt und von Zeit zu Zeit Kohlensäure ein-

geleitet. Dem Verdampfungsrückstand liess sich durch wenig kaltes Wasser ein Theil der Barytsalze entziehen (Portion 1); ein anderer Theil ging erst auf Zusatz von viel heissem Wasser in Lösung (Portion II). In diesen 3 Fractionen von Barytsalzen wurde der Baryumgehalt bestimmt, um die Molekulargrösse der darin enthaltenen Fettsäuren zu ermitteln.

Portion I: 0,488 gr. Substanz gaben 0,318 gr. $BaSO_4$ = 0,187 gr. Ba = 38,3 % Ba.

Molekulargewicht des Ba-Salzes = 357,0,
» der Fettsäuren = 111,0.

Pertion II: 0,6 gr. Substanz gaben 0,3415 gr. $BaSO_4$ = 0,205 gr. Ba = 33,55 %.

Demnach: Molekulargewicht des Ba-Salzes = 409,
Mittleres » der Fettsäuren = 137.

Portion III: a) Durch Extraction mit viel siedendem Alkohol wurde wurde ein Baryumsalz erhalten, von dem 0,133 gr. Substanz 0,0651 gr. $BaSO_4$ gaben = 0,0383 gr. Ba = 28,8 % Ba.

Demnach: Molekulargewicht des Ba-Salzes = 476,0,
Mittleres » der Fettsäuren = 170,5.

b) Von dem in Alkohol nicht gelösten Salz gaben 0,314 gr. Substanz 0,1525 $BaSO_4$ = 0,0896 gr. Ba = 28 55 % Ba.

Demnach: Molekulargewicht des Ba-Salzes = 481,
Mittleres » der Fettsäuren = 173.

Chevreul[1]), welcher zuerst die flüchtigen Säuren der Kuhbutter untersucht hat, wies in denselben Buttersäure, Capron- und Caprinsäure nach.

Lerch[2]) fand unter den flüchtigen Säuren der Kuhbutter durch Trennung als Barytsalze ausserdem Caprylsäure, und in einem Falle im Jahre 1842 an Stelle von Buttersäure Vaccinsäure.

Während Chevreul die niedrig molekularen Säuren von den hoch molekularen durch Auskneten der freien Säuren des Butterfettes getrennt hatte, führte Lerch die Trennung durch Destillation im Dampfstrome aus. Hierbei wurden ca. 10% der gesammten Fettsäuren übergetrieben, von welchen $^9/_{10}$ im wässrigen Destillat gelöst waren.

Ein ganz anderes Mengenverhältniss waltet im vorliegenden Falle zwischen den einzelnen Fettsäuren ob.

---

1) Ann. chim. phys. 22, p. 366 f.
2) Liebig's Annalen 49, S. 212 f.

Obige 96,0 gr. Fett enthielten an Gesammtfettsäuren — nach der weiter unten mitgetheilten Köttstorffer'schen Zahl berechnet — 95,1 % = **91,28** gr.

Hiervon wurden mit Wasserdampf übergetrieben entsprechend 96,5 cbcm. $^1/_{10}$ Normallauge flüchtiger Säuren mit einer mittleren Molekulargrösse = 140; d. h. 140 . 9,65 mgr. = **1,351** gr. = 1,48 % der Gesammtfettsäuren gegenüber 10 %, wie Lerch bei Butterfett fand.

Von den flüchtigen Fettsäuren waren im Destillat gelöst 5,6 . 0,121 (121 wurde als mittleres Molekulargewicht dieses Theiles der Säure gefunden) = 0,6776 gr.; es waren ungelöst: 0,6734 gr. Fettsäuren.

Nach Lerch sind von den flüchtigen Fettsäuren des Butterfettes ca. 90 % im Destillat gelöst; in vorliegendem Falle nur 50,2 %.

Das Fett ist demnach sehr arm an flüchtigen Säuren, vor allem aber an Buttersäure. Das Molekulargewicht der als Baryumsalz getrennten flüchtigen Fettsäuren beträgt bei

Portion I : 111,
» II : 137,
» III : 171.

Portion I enthält dementsprechend neben sehr wenig Buttersäure (88 Molekulargewicht) vorzugsweise Capronsäure (116 M.);

Portion II vorzugsweise Caprylsäure (144 M.);
» III » Caprinsäure (172 M.);

vorausgesetzt, dass in diesem Fett dieselben Säuren vorkommen, wie im Fett der Kuhmilch.

Der weitaus grösste Theil der Fettsäuren aus obigem 96,0 Fett bestand aus nicht flüchtigen Säuren. Dieselben wurden von der sauren Kaliumsulfatlösung getrennt, mehrfach mit heissem Wasser ausgewaschen, getrocknet und filtrirt. Beim Erkalten liess man das Säurengemisch unter Umrühren zu einer homogenen Masse erstarren und bestimmte nach der Hübl'schen Jodadditionsmethode den Gehalt an ungesättigten Säuren, welche als Oelsäure berechnet wurden.

Die Untersuchung wurde ausgeführt nach der Vorschrift Hübl's, wie sie von König in seinem Handbuche: «Die menschlichen Nahrungs- und Genussmittel 1893» wiedergegeben ist, mit der Aenderung, dass für 20 cbcm. Jodquecksilberchloridlösung anstatt der angegebenen 10 cbcm. 20 cbcm. 10proc. Jodkalilösung zugesetzt wurde, um das Ausfallen von Quecksilberbijodid zu verhüten.

I. 0,6235 Fettsäuren absorbirten $\frac{25,1 \,.\, 0,2333}{19,55}$ = 0,2095 gr. = **48,04%** Jod.

II. 0,81 Fettsäuren absorbirten $\frac{32,7 \,.\, 0,2333}{19,55}$ = 0,3902 gr. = **48,18%** Jod.

III. 0,691 Fettsäuren absorbirten $\frac{27,9 \,.\, 0,2333}{19,55}$ = 0,335 gr. = **48,2 %** Jod.

IV. 0,716 Fettsäuren absorbirten $\frac{29,0 \,.\, 0,2333}{19,55}$ = 0,346 gr. = **48,35 %** Jod.

Im Mittel: 48,2% der wasserunlöslichen und nicht flüchtigen Fettsäuren. Dieselben betragen 92,3% des Fettes, welches in den flüchtigen Säuren ungesättigte Verbindungen nicht enthält.

Es absorbirt somit das Fett selbst

$$\frac{48,2 \,.\, 92,3}{100} = 44,5\,\%\ \text{Jod.}$$

Da je 292 Theile Oelsäure 254 Theile Jod absorbiren, so enthält das Fett an Oelsäure[1]):

$$\frac{44,5 \,.\, 282}{4,025} = 49,4\,\%$$

und obiges Fettsäuregemisch:

$$\frac{48,2 \,.\, 283}{254} = 53,5\,\%\ \text{Oelsäure.}$$

Der Gehalt der Kuhbutter an Oelsäure schwankt zwischen 31,75 bis 47,85% und zwar ansteigend mit fortschreitender Lactationszeit.

In vorliegendem Fette ist der bei Kuhbutter beobachtete Maximalgehalt an Oelsäure somit um 1,55% überschritten.

---

[1]) Nach Ganther (Zeitschr. f. anal. Ch. 1893) sollen die nach Hübl's Methode berechneten Werthe für Oelsäure etwas hoch sein.

Der Schmelzpunkt der unlöslichen, nicht flüchtigen Fettsäuren lag bei 37—39°, wogegen diejenigen der Kuhbutter nach Bensemann[1]) und Andern bei 41—44° schmelzen.

Das mittlere Molekulargewicht wurde durch Titration mit $^1/_{10}$ Normal-Natronlauge und durch Analyse des Baryumsalzes ermittelt.

I. 1,1548 gr. Substanz, in wenig Aether gelöst, verbrauchten 43,5 cbcm $^1/_{10}$ Normallauge bis zur Sättigung.

$$\text{Molekulargewicht: } \frac{1,1548 \,.\, 1}{0,00435} = 265.$$

II. 1,022 gr. Substanz verbrauchten 38,0 cbcm. $^1/_{10}$ Normallauge.

$$\text{Molekulargewicht: } \frac{1,022 \,.\, 1}{0,0038} = 269.$$

III. 0,635 gr. Barytsalz (durch Versetzen des Natriumsalzes mit Chlorbaryum erhalten) enthielten 0,2252 gr. $BaSO_4$ = 0,1325 gr. Ba = 20,85 % Ba.

Molekulargewicht: 261,
Mittleres Molekulargewicht: **265**;

ein Werth, welcher darauf schliessen lässt, dass ausser den in allen animalischen Fetten gefundenen Säuren: Stearinsäure (Molekulargewicht 284), Oelsäure (M. 282) und Palmitinsäure (M. 256) — eine Fettsäure von niedrigerem Molekulargewicht vorhanden. Wahrscheinlich handelt es sich um Myristinsäure, welche als Bestandtheil des Butterfettes nachgewiesen ist.

Um Stearinsäure, Palmitinsäure und Oelsäure nachzuweisen, wurden nach Heintz's Vorschrift ca. 60,0 der nicht flüchtigen Fettsäuren in wenig 96 proc. heissem Alkohol gelöst. Nach 12 stündigem Stehen bei ca. — 8° hatte sich eine reichliche Menge Fettsäuren ausgeschieden; sie wurden von der Mutterlauge getrennt und durch wiederholtes Umkrystallisiren aus Alkohol gereinigt.

Die Krystallmasse wurde in Aether und Alkohol gelöst und mit Magnesiumacetatlösung versetzt. Nachdem gut umgeschüttelt war, filtrirte man vom entstandenen Niederschlage ab, wusch mit wenig Aether nach und fügte zum Filtrat von Neuem Magnesiumacetat. Der entstandene Niederschlag wurde

---

[1]) Repertor. für analytische Chemie 1886, S. 197.

wie zuvor abgetrennt; die dritte Fällung sodann durch Zusatz von Magnesiumacetat und Ammoniak hervorgerufen.

Die so erhaltenen 3 Niederschläge wurden mit Aether, Alkohol und mit heissem Wasser gut ausgewaschen. Von der 3. Fällung wurde nur der Antheil berücksichtigt, welcher durch grosse Mengen heissen Alkohols gelöst wurde, nach dem Erkalten des Lösungsmittels aber auskrystallisirte. In den drei Niederschlägen wurde der Magnesiumgehalt bestimmt und der Schmelzpunkt der durch Phosphorsäure wieder abgespaltenen Fettsäuren.

1. Fällung: 2,256 gr. Substanz gaben 0,441 $Mg_2P_2O_7$ = 4,21 % Mg. Schmelzpunkt der Fettsäuren: 61—62°. (Durch partielle Zersetzung des Magnesiumsalzes mit Phosphorsäure wurde eine Fettsäure vom Schmelzpunkt 64° erhalten.)

2. Fällung: 1,42 gr. Substanz gaben 0.281 $Mg_2P_2O_7$ = 4,28 % Mg. Schmelzpunkt der freien Fettsäure: 58,60°.

3. Fällung: 1,18 gr. gaben 0,245 $Mg_2M_2O_7$ = 4,49 % Mg. Schmelzpunkt der freien Fettsäure: 60°.

Palmitinsaures Magnesium enthält 4,5 % Mg; stearinsaures Magnesium 4,07 % Mg. Palmitinsäure schmilzt bei + 62°, Stearinsäure bei + 69,2.

Wenn ein Gemisch beider Säuren vorliegt, so kann der Schmelzpunkt sinken bis + 55,1°. Ist somit durch die fraktionirte Fällung eine exacte Trennung der vorhandenen Fettsäuren nicht gelungen, so kann man doch aus dem Gehalt an Magnesium und aus den gefundenen Schmelzpunkten mit Sicherheit schliessen, dass sowohl Stearinsäure wie Palmitinsäure zugegen sind.

Der in kaltem Alkohol lösliche Theile der nicht flüchtigen Fettsäuren bestand vorzugsweise aus Oelsäure. Da die Abtrennung derselben als Magnesiumsalz nicht gelang, wurde das Fettsäuregemenge in das Bleisalz verwandelt und mit grossen Mengen Aether extrahirt; man erhielt so eine trübe Lösung von ölsaurem Blei.

Zum Vergleich des Fettes der Frauenmilch mit Kuhbutter wurden einige in der Nahrungsmittelchemie für Butterfett üblichen Untersuchungsmethoden ausgeführt.

Die bekannteste derselben —, nach Reichert, Meissl, — basirt auf der Menge der unter bestimmt normirter Ver-

suchsanordnung überdestillirenden Fettsäure. Die ursprüngliche Vorschrift lässt das Fett mit alkoholischer Kalilauge verseifen, während man seit Kurzem meist Glycerin an Stelle von Alkohol verwendet und im Oelbade verseift. Zahlreiche Versuche mit Kuhbutter ergaben nach der letzt erwähnten Vorschrift im Mittel an flüchtigen löslichen Fettsäuren in 110 cbcm. Destillat = 27—28 cbcm. $^1/_{10}$ Normallauge.

5,0 des Fettes der Frauenmilch ergaben bei analoger Behandlung in 2 Versuchen 110 cbcm. Destillat, welches zur Sättigung I. 2,45 cbcm., II. 2,55 cbcm. $^1/_{10}$ Normallauge verbrauchten.

Nach Köttstorffer's Methode wurden die Fettsäuren von 1,94 gr. Fett nach der Verseifung durch 7,5 cbcm. Normal-Kalilauge neutralisirt, woraus die Köttstorffer'sche Zahl 213 resultirt, welche den Verbrauch an KOH in Milligramm zur Verseifung von 1,0 gr. Fett angibt.

Der Procentgehalt an Fettsäuren im Fett beträgt hiernach:

$$\frac{7{,}5\,.\,38^{1)}}{1{,}94\,.\,3} = 49 \text{ mgr.} \qquad \begin{array}{r} 100{,}0 \\ = 4{,}9 \\ \hline 95{,}1\ \%. \end{array}$$

4,0 Fett, nach Hehner's Methode geprüft, hinterliessen nach der Verseifung und nach sorgfältigem Auswaschen der löslichen Fettsäuren 3,728 unlösliche Fettsäuren = 93,2 %.

Der Gehalt an löslichen Fettsäuren betrug demnach:

$$\begin{array}{r} 95{,}1\ \%, \\ -\ 93{,}2\ \%, \\ \hline 1{,}9\ \%. \end{array}$$

Fassen wir die Resultate der Untersuchung nochmals kurz zusammen, so ist nachgewiesen, dass das Fett der Frauenmilch sehr arm ist an flüchtigen und wasserlöslichen Säuren, reich an ungesättigter Säure.

---

1) $\frac{38}{3}$ ist die Aequivalentgewichtszahl des Glycerinrestes aus einem Fettmolekul nach Abzug der drei Fettsäuren.

Vorliegendes Fett enthält:

1,4 % an flüchtigen Säuren,
1,9 % an wasserlöslichen Säuren,
49,4 % ungesättigter Säure.

Die flüchtigen Säuren enthalten höchstens Spuren von Buttersäure; von Capron-, Capryl- und Caprinsäure annähernd gleiche Mengen.

Unter den nicht flüchtigen, unlöslichen Fettsäuren befindet sich ausser den in thierischen Fetten allgemein vorkommenden Palmitin-, Stearin- und Oelsäuren eine oder mehrere Fettsäuren von niedrigerem Molekulargewicht (wahrscheinlich Myristinsäure).

Der Schmelzpunkt dieser Fettsäuren liegt zwischen 37—39° C.; der Schmelzpunkt des Fettes selbst bei 30—31° C.

Das Fett der Frauenmilch ist somit in seiner chemischen Zusammensetzung als wesentlich verschieden von dem Fette der Kuhmilch zu betrachten.

Als diese Arbeit bereits im Druck war, erschien über den gleichen Gegenstand in der Zeitschrift für Biologie, Bd. XXXI, N. F. XIII, S. 1—12, eine eingehende Untersuchung von Dr. W. G. Ruppel aus dem physiologischen Institut zu Marburg.

Physiol.-chem. Universitäts-Laboratorium Strassburg i. E.

Die Eiweissfäulniss im Darm unter dem Einfluss der Milch, des Kefyrs und des Käses.

Von

Dr. med. **Karl Schmitz**, appr. Arzt aus Köln.

(Aus dem Laboratorium von Prof. Baumann in Freiburg i. B.)
(Der Redaction zugegangen am 4. April 1894.)

Bald nach der Entdeckung der Aetherschwefelsäuren im Harn fand Baumann, dass dieselben Schwefelsäure-Verbindungen der aromatischen Reihe darstellen, welche aus Indol, Phenol, p-Kresol und Brenzcatechin im Organismus gebildet werden. Vom Indol war damals bekannt, dass es bei der Fäulniss der Eiweissstoffe entsteht (Kühne, Nencki.) Dass Phenol und Parakresol gleichfalls Producte der Eiweissfäulniss sind, wurde bald nachher von Baumann, Brieger und Weyl festgestellt. Ein weiterer Körper, der an Schwefelsäure gebunden im Harn erscheint, ist das von Brieger entdeckte Skatol, gleichfalls ein Product der Eiweissfäulniss.

Auf Grund dieser Thatsachen gelangte Baumann zu der Schlussfolgerung, dass die Menge der Aetherschwefelsäuren des Harns abhängig sei von dem Grade und der Intensität der Fäulnissprocesse im Darm. Diese Schlussfolgerung gewann indessen eine principielle Bedeutung erst dann, nachdem es gelungen war, zu zeigen, dass im normalen Organismus die Aetherschwefelsäuren des Harns verschwinden, wenn die Fäulnissprocesse im Darme stark behindert oder fast ganz unterdrückt werden.

Diesen Nachweis verdanken wir einem Versuche Baumann's[1]), welcher beim Hunde durch Verabreichung grosser

---

[1]) Zeitschrift für phys. Chemie, Band 10, S. 123.

Calomeldosen eine weitgehende Desinfection des Darmes und, damit Hand in Hand gehend, ein vollständiges Verschwinden der Aetherschwefelsäuren (und der Hippursäure) im Harn erzielte. Seit jener Zeit ist die Bestimmung der Aetherschwefelsäure im Harn sehr oft zur Grundlage bei Beurtheilung der Fäulnissprocesse im Darme gemacht worden.

Solche Feststellungen sind aber nur beim normalen und ganz gesunden Organismus für die Beurtheilung der Darmfäulniss zu verwerthen. Denn bei all' den Krankheiten, bei welchen Spaltpilze in der Blutbahn und in den einzelnen Organen sich finden, wird durch ihre Thätigkeit ausserhalb des Darmrohrs die Spaltung der Eiweisskörper in gleicher Richtung bewirkt, wie durch die Fäulnissprocesse im Darm, d. h. es werden Phenole, Indol und Skatol gebildet, die als Aetherschwefelsäuren im Harn erscheinen. Eingehende Beobachtungen über Ausscheidung der Aetherschwefelsäuren bei derartigen Krankheiten sind namentlich von Brieger und von G. Hoppe-Seyler angestellt worden.

Früher glaubte man, dass in den Geweben und Organen des Körpers ausserhalb des Darmes auch Zersetzungsproducte, welche sonst bei der Eiweissfäulniss auftreten, normaler Weise gebildet werden könnten. Man weiss indessen schon seit geraumer Zeit, dass Spaltpilze in der Blutbahn und in den Organen des Körpers unter normalen Verhältnissen sich nicht oder nur ganz vereinzelt und vorübergehend finden, und durch den früher citirten Versuch Baumann's ist festgestellt worden, dass bei einer hinreichenden Desinfection des Darmrohrs beim Hunde die Aetherschwefelsäuren aus dem Harn vollständig verschwinden.

Mit der letztgenannten Thatsache stehen in gutem Einklang die seitdem beim Menschen gemachten Beobachtungen, über die Verhältnisse der Aetherschwefelsäureausscheidung in Harn unter verschiedenen Umständen.

Morax[1]) war der erste, welcher das von Baumann am Hunde festgestellte Resultat auch beim Menschen zu ver-

---

[1]) Zeitschrift für physiol. Chemie, Bd. 10.

werthen suchte. Zwar gelang es ihm auch beim Thiere durch Eingabe von Calomel und von Jodoform die Eiweissfäulniss im Darme wesentlich zu beeinflussen, beim Menschen erwies sich aber die Darreichung von Calomel innerhalb der zulässigen Dosirung nicht als ein wirksames Desinficiens. Morax hat hierbei die nicht uninteressante Thatsache ermittelt, dass die Anwendung von Laxantien nicht unmittelbar zu einer Herabsetzung der Darmfäulniss führt, sondern in Folge der Anhäufung von Flüssigkeit im Darm zunächst eine recht merkliche Zunahme der Eiweissfäulniss bewirkt.

Rovighi[1]) konnte durch Verabreichung grosser Dosen von Substanzen aus der Gruppe der Terpene und des Kampfers beim Hunde eine beträchtliche Herabminderung der Darmfäulniss erreichen, während beim Versuch am gesunden Menschen eine solche Wirkung nicht so deutlich zu Tage trat. Bei Kranken mit Enteroperitonitis fand er bei Verabreichung eines Tanninklystieres eine geringe Verminderung der aromatischen Producte, bei Application eines Borsäureklystieres eine bedeutende Einschränkung der Eiweissfäulniss, womit jedoch gleichzeitig das Auftreten von schweren Allgemeinsymptomen, die eine Fortsetzung des Versuches nicht zuliessen, verbunden war. In Uebereinstimmung mit Morax sah er bei Eingabe von purgirenden Mitteln zuerst eine Vermehrung, später dagegen eine Verminderung der Aetherschwefelsäure im Harn eintreten.

Bei der Untersuchung über die Desinfection des Darmrohrs oder über die Aenderung der Darmfäulniss mit Hülfe der Bestimmung der Aetherschwefelsäuren im Harn waren von vornherein solche Substanzen ausgeschlossen, welche selbst im Stoffwechsel eine Umwandlung in Aetherschwefelsäure erfahren, wie z. B. β-Naphtol, Salol, Kreosol und ähnliche Stoffe.

Alle vorhergenannten, bisher zum Zwecke der Darmdesinfection verwandten Substanzen sind stark wirkende Stoffe, die nur in begrenzten Mengen beim Menschen Verwendung finden können.

---

[1]) Zeitschrift für phys. Chemie, Bd. 16.

Neuerdings hat man durch eine Reihe von Beobachtungen auf einem ganz andern Wege als durch die obengenannten in der Therapie verwendeten Substanzen eine sehr erhebliche Beeinflussung der Eiweissfäulniss im Darme kennen gelernt. Hierher gehören die Versuche von Pöhl[1]), welcher bei vorwiegender Ernährung mit gekochter und mit saurer Milch eine sehr erhebliche Abnahme der Aetherschwefelsäureausscheidung beobachtet hat. Zu ähnlichen Resultaten gelangte Biernacki[2]), welcher die Aetherschwefelsäureausscheidung bei Milchdiät auf weniger als die Hälfte der sonst normalen Mengen sinken sah. Beide Autoren beschränken ihre Untersuchungen aber auf den Nachweiss dieser fäulnisshemmenden Wirkung der Milch, ohne die Ursache dieser Erscheinung zu ergründen.

Derjenige, der dieser Frage näher trat, war Winternitz[3]), welcher hierbei von den grundlegenden Versuchen Hirschler's ausging, der zuerst die wichtige Thatsache festgestellt hat, dass die Eiweissfäulniss durch die Gegenwart von Kohlehydraten, Glycerin und von milchsaurem Kalk eine wesentliche Einschränkung erfährt.

Hirschler schloss die Wirkung freier Säuren, welche durch die Fäulniss der Kohlehydrate gebildet werden, durch Zusatz von kohlensaurem Kalk bei seinen Versuchen aus. Er nahm an, dass die an sich auffällige Erscheinung dadurch zu Stande komme, dass die Gegenwart von Stoffen, welche noch leichter als die Eiweissstoffe durch die Fäulniss verändert werden, die Eiweissfäulniss beeinträchtigten und gelangte so zu einer Erklärung der die Eiweissfäulniss hemmenden Wirkung der Kohlehydrate.

Winternitz fand nun, dass ein reichlicher Zusatz von Milch zu leicht faulenden Eiweisslösungen die Bildung der aromatischen Producte der Eiweissfäulniss so gut wie ganz zu unterdrücken vermag.

Die ausserhalb des Organismus angestellten Versuche fanden ihre volle Bestätigung durch Beobachtungen, welche

---

1) Nach Maly's Jahresbericht 1887, S. 277.

2) D. Archiv f. klin. Med., Bd. 49, S. 87.

3) Zeitschr. f. phys. Chemie, Bd. 16.

Winternitz bei der Vergleichung der Darmfäulniss bei Milch und bei Fleischdiät am Thiere machte. Er fand, dass die Aetherschwefelsäureausscheidung eines Hundes $3^1/_2$ mal so gross bei Fleischdiät als bei reiner Milchnährung war.

Den Nachweis, dass auch hier der Zuckergehalt der Milch die Ursache ihres fäulnisshemmenden Einflusses auf die Darmfäulniss sei, führte Winternitz so, indem er zeigte, dass das Caseïn der Fäulniss gegenüber sich nicht anders verhält als andere Eiweissstoffe und dass das Fett, wie schon Hirschler gefunden hatte, die Eiweissfäulniss nicht beeinflusst. Demnach bleibt nur der Milchzucker übrig, welchem in Uebereinstimmung mit den Versuchen Hirschler's die eigenartige Wirkung der Milch bei der Eiweissfäulniss zugeschrieben werden muss.

Winternitz lässt es dabei hingestellt, ob die Bacterien, welche die Kohlehydrate spalten, die Eiweissbacterien schädlich beeinflussen, oder ob die rasche Spaltung, welche die Kohlehydrate erfahren, die Bacterien so vollauf in Anspruch nimmt, dass das Eiweiss zunächst keine tiefgehende Zersetzung erfährt. Letztere Vermuthung hat Hirschler ausgesprochen. Bienenstock[1]) dagegen ist auf Grund seiner Untersuchungen zu der Ansicht gelangt, dass die Eiweissfäulniss durch besondere Bacterien, welche auf Kohlehydrate überhaupt nicht einwirken, zu Stande kommt. Danach wäre die zuerst genannte Erklärung von Winternitz die richtigere.

Eine andere als bisher genannte Betrachtung erfuhr die Frage der Beeinflussung der Darmfäulniss durch die Milch in Folge von Untersuchungen Rovighi's[2]), welche der Arbeit von Winternitz vorausgingen. Rovighi fand, dass bei Kefyrdiät die Ausscheidung der Aetherschwefelsäuren im Harn gleichfalls erheblich sinkt. Bei einem Versuche wurden täglich $1^1/_2$ L. Kefyr genommen. Nach einigen Tagen verschwand die Indoxylreaction des Harnes und die Aetherschwefelsäureausscheidung ging auf etwa $^2/_3$ der ursprünglichen Menge zurück.

---

[1]) Zeitschrift f. klinische Med., Bd. 8, S. 1—47.

[2]) Zeitschr. f. phys. Chemie, Bd. 16.

Da im Kefyr der grössere Theil des Zuckers der Milch vergohren ist, glaubte Rovighi die Wirkung des Kefyrs auf die Darmfäulniss durch die in ihm enthaltenen Milchsäure erklären zu müssen. Er stellte zu diesem Zwecke Versuche mit Milchsäure an, von welcher er an 3 aufeinander folgenden Tagen je 15 gr. zu sich nahm. Dabei zeigte sich aber nur ein mässiger Einfluss der Milchsäure auf die Ausscheidung der Aetherschwefelsäuren im Harn. Die Verminderung der letzteren stand der bei Kefyrdiät beobachteten weit nach, so dass eine befriedigende Erklärung der Art und Weise der Wirkung des Kefyrs nicht gegeben werden konnte.

Auf Veranlassung von Herrn Prof. Baumann unternahm ich es, diese Erklärung durch neue Versuche zu finden, wobei ich ein noch zuckerärmeres Material, als es der Kefyr ist, den aus der Milch abgeschiedenen Käse, zunächst bei Fütterungsversuchen am Hunde, zur Anwendung brachte. Ueber einige der hierbei erzielten Resultate habe ich in einer vorläufigen Mittheilung[1]) berichtet.

Bevor ich auf die Versuche selbst eingehe, will ich vorausschicken, dass ich die Bestimmung der Aetherschwefelsäuren im Harn für die Ermittelung der Eiweissfäulniss im Darm verwerthet habe. Dabei habe ich weniger Werth auf die Ermittelung des Verhältnisses der präformirten (A) und gepaarten Schwefelsäuren (B) als auf die Bestimmung der absoluten Mengen der Aetherschwefelsäuren gelegt. Denn diese allein ergeben den richtigen Massstab für die Erkennung von Aenderungen der Eiweissfäulniss im Darm, namentlich in solchen Fällen, wo die Art der Ernährung nicht dieselbe bleibt. Ein Wechsel in der Nahrung sowohl nach Quantität als nach Qualität kann die Ausscheidung der präformirten Schwefelsäure sehr erheblich beeinflussen, ohne dass eine Aenderung in der Production der Aetherschwefelsäuren einzutreten braucht. Beispielsweise ist das Verhältniss von A:B bei Hunden nach Fütterung mit Zwieback erheblich kleiner gefunden worden als bei der Fleischkost (Röhmann, Rovighi[2]).

---

[1]) Zeitschrift f. phys. Chemie, Bd. 17, S. 401—403.

[2]) Ebendaselbst, Bd. 16.

Das rührt aber nicht davon her, dass bei den mit Zwieback gefütterten Hunden eine erhöhte Ausscheidung der Aetherschwefelsäuren stattfindet, sondern wird lediglich dadurch bedingt, dass die Menge der Sulfatschwefelsäure im Harn bei dieser Art der Ernährung erheblich geringer ist, als bei der Fütterung mit Fleisch und mit Milch.

Auch aus der Arbeit von Winternitz lässt sich hierfür ein treffendes Beispiel anführen. Winternitz fand in einigen Versuchen bei Milch- und Fleischdiät fast genau dasselbe mittlere Verhältniss von A : B, während die absoluten Mengen der Aetherschwefelsäuren in Harn bei Fleischdiät fast 4mal so gross waren wie bei Milchdiät.

Dass in vielen Fällen die Ermittelung des Verhältnisses von A:B nicht ausreicht, um über die Grösse der Aetherschwefelsäureausscheidung eine richtige Vorstellung zu geben, ist früher bereits von verschiedenen Seiten betont worden. Dass in andern Fällen, wo die Art der Ernährung nach Qualität und Quantität genau regulirt ist oder constant bleibt, gerade das Verhältniss von A:B den ausschlaggebenden Werth darstellt, soll durch obige Ausführungen natürlich nicht bestritten werden.

Ueber die Beeinflussung der Eiweissfäulniss durch Kohlehydrate liegen die schon angeführten Untersuchungen von Hirschler und von Winternitz vor. Hirschler[1]) hat diesen Einfluss (beim Rohrzucher) auch hinsichtlich der Darmfäulniss untersucht, indem er einem Hunde längere Zeit Rohrzucker in der Nahrung verabreichte. Nach 7 Tagen wurde das Thier getödtet und der Darminhalt untersucht. Dabei zeigte sich, dass der Dickdarm des mit Zucker und Fleisch gefütterten Thieres erheblich weniger Indol und Phenol enthielt, als es bei einem andern Thiere der Fall war, welches nur mit Fleisch gefüttert worden war.

Um festzustellen, wie die Zufuhr von grösseren Mengen von Milchzucker bei Hunden die Aetherschwefelsäureausscheidung beeinflusst, habe ich zunächst zur Orientirung über diese Frage einige Versuche angestellt.

---

[1]) Zeitschrift f. phys. Chemie, Bd. X.

1. Versuch mit Milchzucker.

Zu diesem und den folgenden Versuchen diente ein Hund von 6½ K. Gewicht, welcher gewohnt war, den Harn täglich regelmässig zu entleeren. Sein Futter bestand während längerer Zeit in 1 Pfund Hundekuchen, welcher mit 1 L. Wasser zerrührt wurde. Dabei zeigte er keine Veränderung seines Gewichtes. Die Aetherschwefelsäureausscheidung betrug im Mittel an den Normaltagen 0,0992 gr. $H_2SO_4 = 0,2358 BaSO_4$ pro die.

Die erste Darreichung von Milchzucker mit dem Futter in einer Quantität von 100 gr. rief starke Diarrhöen hervor. Der mit Fäces verunreinigte Harn wurde von der Schwefelsäurebestimmung bis zur völligen Klarheit filtrirt. Am 2. Versuchstag bekam das Thier nur 50 gr., am 3. 75 gr., am 4. wieder 100 gr. Milchzucker. Die Durchfälle blieben, wenn auch geringer als nach dem ersten Tage bestehen, so lange Milchzucker gegeben wurde. Vom 3. Tage an stellte sich eine weitere Störung dadurch ein, dass der Hund das vorgesetzte Futter nicht regelmässig frass.

Die Verhältnisse der Aetherschwefelsäureausscheidung ergeben sich aus folgender Tabelle:

Tabelle I.

	Harn.		Schwefelsäure in Form von $BaSO_4$ aus 50 cbcm. Harn.		A/B	Gesammtätherschwefelsäureausscheidung in Form von $BaSO_4$ in 24 Stunden.	Gewicht des Hundes.	Fütterung.	Zusatz zum Futter.	Bemerkungen.
	Menge.	Spec. Gew.	aus Sulfaten.	aus gepaarter Schwefelsäure.						
Tag.	700	1009	0,0267	0,013	2,05	0,182	13 Pfd.	1 Pfd. Hundekuchen. 1 L. Wasser.	—	Normaltage.
»	825	1013	0,0516	0,0186	2,8	0 307	»		—	
»	650	1013	0,0582	0,0168	3,49	0,2184	»		—	
						0,2358				
»	300	—	—	0,0175	—	0,105	»	1 Pfd. Hundekuchen und 1 L. H_2O.	100 gr.	Milchzucker. starke Diarrhöe.
»	185	1039	0,130	0,053	2,45	0,196	»		50 »	weniger starke Diarrhöe.
»	270	1015	0,0343	0,0147	2,3	0,0794	12,25		75 »	nur die Hälfte gefressen.
»	680	—	0,336	0,0257	1,31	0,3495	»		100 »	

Aus diesem Versuche, welche durch die Diarrhöe und die am 3. Tage schon eingetretene Ernährungsstörung beeinflusst sind, ergibt sich keine Aenderung für das Verhältniss von A:B.

Die absolute Ausscheidung der Aetherschwefelsäuren fiel an den drei ersten Tagen, erhob sich aber am vierten Tage (wahrscheinlich in Folge der Diarrhöen, zum Theil auch in Folge der vermehrten Harnproduction an diesem Tage) auf einen Werth, welcher die Norm um die Hälfte übertrifft. Nach den Erfahrungen von Morax ist es verständlich, dass die eingetretenen Diarrhöen die Darmfäulniss im entgegengesetzten Sinne beeinflussen, als die Gegenwart des Zuckers an und für sich.

2. Fütterungsversuche mit Käse beim Hunde.

Derselbe Hund, welcher zu den Versuchen mit Milchzucker gedient hatte, wurde auch hier verwendet. Die mittlere Ausscheidung der Aetherschwefelsäuren entsprach, wie durch einige vorläufige Bestimmungen bei Fütterung mit Hundekuchen ermittelt wurde, — 0,2403 gr. $BaSO_4$ in 24 Stunden.

Für diese Versuche kam sehr zu statten, dass der Hund den Käse gut ertrug und Quantitäten von 1—2 Pfund des frischen Topf- oder Quark-Käses, sowie er von den Bauern auf den Markt gebracht wird, tagelang zu sich nahm. Nach vorausgegangenen Hungertagen können die Mengen noch gesteigert werden.

Das Gewicht des Hundes unterlag während der Versuchsreihe naturgemässen Schwankungen, es betrug bei Beginn derselben aber fast genau soviel, als nach Beendigung des Versuches also 6,125 K.

An den beiden ersten Tagen kam ein Topfkäse zur Verwendung, welcher gepresst war und schon begonnen hatte, in Fäulniss überzugehen. An allen folgenden Tagen wurde der ganz frische Käse verabreicht.

Die folgende Tabelle gibt Aufschluss über die Aetherschwefelsäureausscheidung während der Käsefütterungsperiode.

Dass die Menge der Gesammtschwefelsäure im Harn mit dem Beginn der Käsefütterung sehr erheblich in die Höhe ging, was ohne Weiteres verständlich ist, soll nur beiläufig erwähnt werden. Aus diesem Grunde habe ich hier das Verhältniss von A : B nicht mehr in Vergleich mit dem an Normaltagen gestellt, sondern ausschliesslich die absoluten Mengen der Aetherschwefelsäuren mit einander verglichen.

Tabelle II.

Datum.		Harn.		Aetherschwefelsäure als $BaSO_4$.		Gewicht des Hundes in Pfund.	Fütterung.	Bemerkungen.
Monat.	Tag.	Menge.	Spec. Gew.	50 cbcm.	pro die.			
Mai.	26	400	1022	0,0326	0,2608	12,25	Hundekuchen,	Normaltage. Mittelwerth 0,2403.
»	27.	105	1059	0,126	0,265	»	1 L. Wasser.	
»	28	400	1026	0,024	0,1952	—		
Juli.	9.	100	1048	0,048	0,096	—	400 gr. fester	
»	10.	700	1028	0,0075	0,105	—	650 » Käse.	
»	11.	490	1040	0,053	0.0497	12,30	2 Pfund Topfkäse.	
»	12	550	1036	0,007	0,077	»	2 » »	
»	13.	460	1032	0,0112	0.103	—	1 » »	
»	14.	380	1030	0,010	0.076	—	2 » »	
»	15.	550	1020	0,0075	0,0825	»	2 » »	
»	16	360	1020	0.011	0,0792	—	Hund hungert,	
»	17.	75	1052	0,072	0,108	—	1 L. Wasser.	
»	18.	490	1029	0,0023	0,0225	12,30	3 Pfund Käse. $1^1/_2$ Morgens, $1^1/_2$ Mittags.	Phenol- und Indoxylreaction negativ.
»	19.	—	—	—	—	»	Hund hungert,	
»	20.	125	1041	0,0263	0,1315	—	1 L. Wasser.	
»	21.							
»	22.	580	1024	0,0045	0,0522	12,25	$4^1/_2$ Pfund Käse.	
»	23.	780	1022	0,004	0,0624	—	$1^1/_2$ » »	
»	24.	—	—	—	—	—	Hund hungert,	
»	25.	—	—	—	—	—	1 L. Wasser.	
»	26.	620	1026	0,0055	0,067	—	$4^1/_2$ Pfund Käse.	
»	27.	—	—	—	—	—	Hund hungert,	
»	28.	—	—	—	—	—	1 L. Wasser.	
»	29.	250	1045	0,014	0,070	—	4 Pfund Käse.	
»	30.	150	1047	—	—	—	Hund hungert.	Phenolreact. fehlt. Indoxylreact. stark.
»	31.							

Datum.		Harn.		Aetherschwefelsäure als $BaSO_4$		Gewicht des Hundes in Pfund.	Fütterung.	Bemerkungen.
Monat.	Tag.	Menge.	Spec. Gew.	50 cbcm.	pro die.			
Aug.	1.	500	1040	0,000	0,000	12,25	3 Pfund Käse, 1½ Morg., 1½ Mittags.	
»	2.	450	1035	0,005	0,045	»	3 Pfund Käse, 1½ Morg., 1½ Mittags.	
»	3.	150	1045	—	—	»	Hund hungert.	
»	4.	100	1038	0,0525	0,105	»	Hund hungert.	
»	5.	180	1035	0,0165	0,0594	»	3 Pfund sterilisirter Käse.	Schwache Indoxyl-reaction.
»	6.	130	1020	—	—	»	Hund hungert.	Starke Indoxylrea[ction]
»	7.	300	1012	0,004	0,024	»	3 Pfund sterilisirter Käse.	Schwache Indoxyl-reaction.

NB. Die angegebenen Gewichtsmengen des verfütterterten Käses beziehen sich auf die Quantitäten des Käses, so wie er auf dem Markt angekauft wurde. Bevor dieselben zur Verfütterung gelangten, hatten sich aus demselben nicht unerhebliche Quantitäten wässeriger Flüssigkeit abgesondert, welche vor der Fütterung abgegossen wurden, weil der Hund den Käse in diesem Zustande lieber zu sich nahm.

Wie aus der Tabelle hervorgeht, trat schon am 1. Tage nach Verabreichung des festen Käses eine Verminderung der Aetherschwefelsäureausscheidung von 0,2403 gr. pro Tag auf 0,096 gr. ein. Dieselbe wird weiter herabgesetzt bei der nun folgenden Fütterung mit dem frischen Topfkäse, sie sinkt zunächst auf fast ⅕ der normalen Ausscheidung und steigt dann wieder etwas an, trotzdem die Käsefütterung fortgesetzt wird, bleibt aber doch immer erheblich unter den früheren Normalwerthen. Am 16. und 17. wird dem Hunde die Nahrung entzogen und nur 1 L. Wasser verabreicht, wonach die Ausscheidung der Aetherschwefelsäure wieder zunimmt. Die Indoxylreaction ist in diesem Falle sehr deutlich, dagegen fehlt die Reaction auf Phenol; auch diese Beobachtungen stimmen mit früher schon gemachten überein.

Am 17. bekommt der Hund wieder frischen Käse und zwar 1½ Pfund Vor- und 1½ Pfund Nachmittags. Der am

folgenden Tage gesammelte Harn enthielt 0,0225 gr. Aetherschwefelsäure (als $BaSO_4$), also nur noch den 10. Theil der normalen Ausscheidung. Die Reactionen auf Phenol und Indoxyl bleiben durchaus negativ. Diese Thatsache veranlasste mich, den Harn auch auf Oxysäuren zu untersuchen. Zur Probe wurden 200 cbcm. desselben Harnes mit 50 cbcm. verdünnter Salzsäure versetzt und zu $^1/_4$ abdestillirt, der Rückstand mit Aether geschüttelt und der hierdurch gewonnene Aetherextract im Scheidetrichter von der wässrigen Flüssigkeit getrennt. Der Aetherauszug wird mit Sodalösung durchgeschüttelt, die wässrige Flüssigkeit abgegossen, mit Schwefelsäure angesäuert und wiederum mit Aether extrahirt. Der letzte Aetherauszug wird schliesslich auf einem heissen Wasserbade verdampft, der letzte Rückstand mit Wasser in ein Reagensglas gespült und mit Millon's Reagens versetzt. Eine deutliche Rothfärbung beim Erwärmen zeigte die Gegenwart von Oxysäure an. Die Reaction ist aber deutlich schwächer als beim normalen Harn. Es scheint demnach auch eine Verminderung dieser aromatischen Producte im Harn bei Einführung von Käse stattzufinden, was mit den Versuchen Baumann's übereinstimmt, der bei Eingabe von starken Calomeldosen ebenfalls eine Verminderung dieser Körper constatirte, und es dahingestellt sein liess, ob dieselben ausschliesslich der Darmfäulniss ihre Entstehung verdanken. Vom 18.—22. liess ich den Hund abermals hungern, gab ihm dann 4 Pfund Käse in 4 auf den Tag gleichmässig vertheilten Portionen zu 1 Pfund. Nach der 3. Portion brach er einen Theil aus, frass ihn aber später wieder. Am letzten Hungertage wurde eine Bestimmung ausgeführt, die mit den früher unter gleichen Bedingungen angestellten fast vollkommen Uebereinstimmung zeigt. Am 22. beträgt die Menge der ausgeschiedenen Aetherschwefelsäuren wieder 0,052 gr. (als $BaSO_4$), also fast den $^1/_5$ Theil der Norm.

An den beiden nächsten Tagen wurde dem Hunde die Nahrung wieder entzogen, am 25. wurden $4^1/_2$ Pfund Käse gefüttert, dann noch einmal vom 27.—29. in derselben Weise verfahren. Vergleichen wir jetzt die beiden letzten Bestimmungen

mit den am 18. erhaltenen Resultate, so machen wir die auffallende Entdeckung, dass eine um den dritten Theil kleinere Portion 3mal so stark die Darmfäulniss beeinflusst, als eine entsprechend grössere Käseportion. Dieser Umstand brachte mich auf den Gedanken, dass diese grosse Differenz vielleicht durch eine verschiedene Versuchsanordnung bedingt sei.

Ich hatte nämlich am 17., wie oben bereits bemerkt, den Käse in 2 gleichen Portionen auf den Morgen und Nachmittag vertheilt gegeben. Dagegen am 21. und 25. die Portion auf einmal verabreicht. Um meine Vermuthung, dass in diesem Umstande die Verschiedenheit der beiden Resultate begründet sei, zu prüfen, wiederholte ich meine Versuchsanordnung vom 17. noch einmal in genau derselben Form. 2 Tage vorher hungerte der Hund, am 3. Tage (1. Aug.) bekam er wie in dem früheren Versuch je $1\frac{1}{2}$ Pfund Vor- und Nachmittags. Der Erfolg war hier ein besonders merkwürdiger, in sofern die Aetherschwefelsäuren im Harn vollständig verschwunden waren.

Zur Probe wurden 100 cbcm. Harn mit überschüssigem Chlorbaryum und so viel Wasser versetzt, dass das Volum der Mischung 200 cbcm. betrug. Von dem klaren Filtrat wurden 100 cbcm. (= 50 cbcm. Harn) mit 20 cbcm. HCl (10%) auf dem Wasserbade längere Zeit erhitzt. Nach 2stündigem Kochen hatten sich auch nicht die geringsten Spuren von $BaSO_4$ auf dem Boden des Glases abgesetzt. Da ich zunächst die Möglichkeit irgend eines unbemerkten Fehlers bei der Bestimmung in Betracht zog, wiederholte ich diese mit demselben Harn noch zweimal, jedesmal mit demselben Erfolge. Erst viel später schied sich beim Abkühlen ein dunkel gefärbter flockiger Niederschlag aus, der sich beim Erhitzen wieder vollständig auflöste. Die qualitative Untersuchung auf Phenol und Indoxyl ergab ein negatives Resultat.

Am folgenden Tage wurde der Versuch noch einmal wiederholt. Diesmal fanden sich aber 0,045 gr. Aetherschwefelsäure (als $BaSO_4$). Es scheint somit die Ausscheidung der letzteren in mässigem Grade auch durch den vorausgegangenen Hungerzustand mit beeinflusst zu werden.

Es ist mir auch bei Wiederholung der Fütterung mit abnorm grossen Mengen Käse nicht wieder geglückt, das totale Verschwinden der Aetherschwefelsäuren im Harn zu beobachten, aber bei jeder Wiederholung des Versuches zeigte sich ein ganz unverkennbarer und beträchtlicher Einfluss der Käsefütterung auf die Eiweissfäulniss im Darm. Es sind also in dem oben erwähnten Falle besonders günstige Umstände, welche in den Verhältnissen der Resorption im Darm und dem Zustand des Darmes vor der Fütterung wahrscheinlich zu suchen sind, zusammengetroffen, wodurch das totale Verschwinden der Astherschwefelsäure im Harn herbeigeführt worden ist.

Fassen wir nun Alles, was in diese Versuchsreihe gehört, zusammen, so können wir hieraus verschiedene Schlüsse ziehen:

1. Die Ausscheidung der Aetherschwefelsäuren findet durch Verabreichung von Käse eine ganz bedeutende Abnahme.
2. Diese Abnahme ist abhängig von:
   a) der Art des Käses, ob alt oder frisch,
   b) » Menge des Käses,
   c) » Vertheilung des Käses auf den einzelnen Tag,
   d) davon, ob das Thier vor der Käsefütterung gehungert hat, oder nicht.

Eine kurze Uebersicht über diese Verhältnisse ergibt sich aus folgender Zusammenstellung:

Tabelle III.

Normalmaass 0,2403 gr. Aetherschwefels. als $BaSO_4$.

A. Bei festem Käse, durchschnittlich			0,1004		»	»	»
B. Bei frischem Käse. In einer Portion	nicht sterilisirter Käse.	1 Pfd. K. »	0,103		»	»	»
		2 » » »	0,0713		»	»	»
		4½ » » »	0,0685		»	»	»
	sterilisirter Käse.	3 » »	0,0594	0,0417	»	»	»
		3 » »	0,024				
In mehreren Portionen.	18. Juli. Hund hungert.		0,0225	0,03317 gr. (im Mittel)		»	»
	1. Aug. » »		0,000				
	2. » » hung. nicht		0,045				

Eine Erklärung der höchst merkwürdigen Thatsache, dass ein vollständig indifferenter Stoff, welcher ohne Schädigung des Organismus ertragen wird und zugleich ein Nahrungs-

mittel ist, wie der frische Käse, die Eiweissfäulniss in so hervorragender Weise zu hemmen, ja selbst aufzuheben vermag, war nicht leicht zu geben.

Berücksichtigen wir die Zusammensetzung des Käses, des Kefyrs und der Milch, und vergleichen hiermit den Grad ihrer fäulnisshemmenden Wirkung, so fällt sofort auf, dass sich hier der grösste Gehalt an Caseïn mit dem höchsten Grad der fäulnisshemmenden Wirkung deckt, dass dagegen diese Stoffe in Beziehung auf ihren Gehalt an Kohlehydraten sich umgekehrt verhalten. Es musste sich daher unwillkürlich der Gedanke aufdrängen, das Caseïn für diese erwähnte Wirkung anzuschuldigen.

An eine Bacterien tödtende Wirkung des Caseïns war ja ernstlich nicht zu denken. Immerhin war es von Interesse, festzustellen, wie die Fäces in Beziehung auf den Gehalt an Bacterien sich verhielten. Herr Dr. Blum, welchem ich für seine freundliche Unterstützung meinen verbindlichsten Dank sage, hatte die Güte, mit mir einige Plattenculturen aus den nach längerer Käsefütterung erzielten Fäces des Hundes anzulegen. Die Platten waren schon nach 2 Tagen von Colonien von Spaltpilzen dermassen übersäet, dass der Gedanke, dass in dem Darme der mit Käse gefütterten Hunde Bacterien fehlen könnten, alsbald von der Hand zu weisen war. Ausserdem liess sich in den Fäces nach dem Zerreiben mit Wasser ein deutlicher Fäulnissgeruch wahrnehmen und bei der Destillation wurden sowohl Phenol, Indol als auch besonders Skatol mittelst den gebräuchlichen Reactionen gefunden.

Es muss besonders hervorgehoben werden, dass die Darmentleerungen trotz der grossen Massen von Käse, welche aufgenommen wurden, spärlich und in grösseren Zwischenräumen nur alle 2—3 Tage erfolgten. Die Massen waren meist hellgrau gefärbt und zeigten eine zähe feste, beinahe harte Consistenz. Durch letzten Umstand wird es verständlich, dass die in demselben noch enthaltenen Spuren von aromatischen Fäulnissproducten der Resorption entzogen wurden, und dass in diesen Massen die etwa vorhandenen Bacterien zu einer bemerkenswerthen Thätigkeit als Fäulnisserreger nicht gelangen konnten.

Wenn die Eindickung des Darminhaltes schon in den unteren Abschnitten des Dünndarms erfolgt, so wäre damit schon ein Factor der Herabminderung der Darmfäulniss gegeben. Dass es nicht der einzige ist, soll weiter unten gezeigt werden.

Zunächst wurde bei der weiteren Verfolgung der Frage ein Umstand in Betracht gezogen, welchem auch Winternitz bei seinen Milchversuchen in's Auge gefasst hat. Es war denkbar, dass die in dem frischen Käse massenhaft enthaltenen Spaltpilze die eiweissspaltenden Bacterien unterdrücken und dadurch die Wirkung des Käses auf die Darmfäulniss bedingten.

Um diese Möglichkeit zu prüfen, wurden dem Hunde an 2 Tagen, nachdem er vorher jedesmal gehungert, je 3 Pfund Käse verabreicht, welcher zuvor in Blechbüchsen eingeschlossen durch einstündiges Erhitzen im strömenden Dampf sterilisirt worden war. Es zeigt sich, dass bei Verfütterung des sterilisirten Käses eine ebenso starke oder noch stärkere Verminderung der Darmfäulniss erzielt wurde, als bei der Einfuhr von nicht sterilisirtem Käse. Von einer Wirkung der Milchsäurebacterien, welche schon im frischen Käse enthalten sind, können wir also auf Grund des zuletzt genannten Versuches absehen.

Ein anderer Versuch führte zur Entscheidung der Frage. War nämlich das Caseïn und die durch dieses bedingte Eindickung des Darminhaltes die alleinige Ursache der Wirkung des Käses, so mussten wir mit chemisch rein dargestelltem Caseïn denselben Erfolg erzielen wie mit dem Topfkäse.

Zu diesem Zwecke wurden 6 Pfund Käse in der Form, wie wir ihn bisher benutzt, in Alkohol fein gerührt, und solange ausgewaschen, bis der Alkohol keine Zuckerreaction mehr gab.

Die letzte Spur von Reaction verschwand erst am Ende des 3. Tages. Es war auffallend, welche Schwierigkeiten die völlige Entfernung des Milchzuckers aus dem Käse macht, trotzdem er wiederholt mit Alkohol so innig wie möglich gemischt wurde.

Das reine von Milchzucker und Fett befreite Caseïn wurde nunmehr an der Luft getrocknet, hernach mit Wasser

zu einem etwas dickflüssigen Teig angerührt und mit Kochsalz versetzt, um die gänzliche Geschmacklosigkeit etwas zu verringern. Diese Mischung erhielt der Hund nun in 2 gleichgrossen Portionen an 2 aufeinanderfolgenden Tagen, nachdem er 3 Tage vorher gehungert hatte. Ich muss bemerken, dass ich den Hund hungern liess, um dadurch die Aufnahme möglichst grosser Portionen des Caseïns zu ermöglichen.

Tabelle IV.

Datum.	Harn.		Aetherschwefels. als $BaSO_4$.		Gewicht des Hundes.	Fütterung.	Bemerkungen.
	Menge.	Spec. Gew.	50 cbcm.	pro die.			
Montag . .	550	1041	0,026	0,286	36 Pfd.	Hundekuchen.	1 L. Wasser. Normalbestimmung.
Donnerstag	625	1042	0,023	0,2863	»	250 gr. } reines Caseïn.	
Freitag . .	300	1046	0,068	0,408	»	250 » } reines Caseïn.	

Wie wir nunmehr aus der vorliegenden Tabelle entnehmen können, zeigt sich nach Verabreichung von reinem Caseïn gar kein Einfluss mehr auf die Darmfäulniss im Sinne der Beschränkung derselben. Es nehmen im Gegentheil die absoluten Mengen eher zu wie ab. Doch möchte ich auf diese Zunahme im vorliegenden Fall kein zu grosses Gewicht legen, da ich mich bei demselben eines anderen Versuchsthieres bediente und von ihm nur e i n e Normalbestimmung vorher habe ausführen können. Jedenfalls liefert dieser Versuch aber den unumstösslichen Beweis, dass das Caseïn allein auch nicht im Geringsten im Stande ist, die Darmfäulniss einzuschränken. Es sei noch erwähnt, dass der Hund während der Zeit der Caseïnfütterung und zwei Tage nach derselben keine Fäces abgab, wodurch also die oben schon erwähnte verstopfende Wirkung des Käses bestätigt wird.

Nach dem Ergebniss dieses Versuches war es nun nicht mehr zweifelhaft, dass die Wirkung des Käses auf die Darmfäulniss durch denselben Umstand bedingt wird, wie der

gleiche Einfluss der Milch, nämlich durch den Zuckergehalt des Käses, dass also die Versuche von Hirschler und von Winternitz auch in dem vorliegenden Falle den Schlüssel zur Erklärung an die Hand geben.

Diesen Umstand habe ich im Anfang meiner Versuche deshalb nicht in Betracht gezogen, weil der Gehalt des Käses an Zucker ein sehr erheblich geringerer ist als der der Milch.

Dass doch der relativ geringe Gehalt des frischen Käses an Milchzucker (vielleicht kommt hier auch noch der Milchsäuregehalt zur Geltung) einen beträchtlichen Einfluss ausübt, findet eine Erklärung wohl in der Thatsache, dass der Käsestoff dem Zucker als ein Vehikel in den Darm dient, in welchem der Zucker vielleicht annähernd soweit vordringt, bis durch die Eindickung des Darminhalts einer wirksamen Entwickelung der Fäulnissprocesse Einhalt geboten wird. Der Umstand, dass nach Eingabe von Zucker allein oder als Zusatz zur Nahrung kein solcher Effect wie mit Milch oder mit Käse zu erzielen ist, dürfte wohl einmal durch die rasche Resorption des Zuckers (s. meinen ersten Versuch), zweitens in seiner abführenden Wirkung zu suchen sein. Dass durch letztere die Darmfäulniss an sich begünstigt wird, ist früher schon besprochen worden.

Versuche am Menschen.

Nachdem ich die Wirkung des frischen Käses beim Thier ermittelt, und eine Erklärung für dieselbe gefunden hatte, war es nicht ohne Interesse festzustellen, ob die beim Thiere gefundenen Verhältnisse sich auch beim Menschen ergeben. Diese Ermittelung war schon desshalb von einiger Bedeutung, weil der Genuss von Topfkäse nicht selten Magen- und Darmkranken empfohlen worden ist und er im Volksmunde als «gesund» und besonders «bekömmlich» gilt. Es ist freilich auch bekannt, dass die letztere Eigenschaft des frischen Käses sich nicht immer bewährt.

Ich hatte Gelegenheit, am gesunden und kranken Menschen hierüber Versuche anzustellen. Einer meiner Freunde war so

liebenswürdig, sich mir für 2 Tage zu einem Versuche zur Verfügung zu stellen. Am ersten Tage wurde eine Normalbestimmung ausgeführt, am folgenden erhielt der betreffende Herr den ganzen Tag über nur Käse und Zwieback, beides nach Belieben und dazu eine Flasche gewöhnlichen Tischweines. Das Resultat dieses Versuches enthält folgende Tabelle, wonach also auch beim Menschen eine erhebliche Abnahme der Aetherschwefelsäuren bei Zufuhr von Käse eintritt, die zwischen $^1/_3$ und $^1/_2$ der ursprünglichen Mengen beträgt.

Tabelle V.

Datum.		Harn.		Schwefelsäure als $BaSO_4$ in 50 cbcm.		Gesammt-Aether-schwefelsäure als $BaSO_4$.	$\frac{A}{B}$	Bemerkungen.
Monat.	Tag.	Menge.	Spec. Gew.	A. aus Sulfaten.	B. aus gepaarter Schwefelsäure.			
Juli.	21	2400	1018	0,1758	0,0115	0,552	15,3	Gewöhnliche Mahlzeiten werden eingenommen.
»	22	2350	1016	0,2358	0,0075	0,352	31,4	1 Pfund Käse und Zwieback, 1 Fl. Wein; schwache Indoxyl- u. Phenolreaction.

Phenol- und Indoxylreaction waren beide nur schwach vorhanden. Wir sehen auch eine erhebliche Vergrösserung der Verhältnisszahl A : B, die aber zum Theil durch die vermehrte Schwefelsäureausscheidung bedingt ist.

Die beiden folgenden Tabellen enthalten Bestimmungen, welche ich an einem an Phthisis pulmonum und an einem an Tuberculosis intestinalis leidenden Patienten, bei welchen ich durch die Güte von Herrn Geheimrath Bäumler einige Beobachtungen anstellen konnte, ausführte. Beide Kranke erhielten vom 31. Juli an Morgens und Nachmittags je $^1/_4$ Pfd. Käse mit etwas Gewürz versetzt.

Tabelle VI.

Franz Pfister. Phthisis pulmonum.

Datum.		Harn.		Schwefelsäure als $BaSO_4$ in 50 cbcm.		Gesammt-schwefelsäure als $BaSO_4$ pro die.			
Monat.	Tag.	Menge.	Spec. Gew.	A. aus Sulfaten.	B. aus gepaarter Schwefelsäure.	B. aus gepaarter Schwefelsäure.	A + B aus gepaarter u. präform. Schwefels.	$\frac{A}{B}$	Bemerkungen.
Juli.	28	2600	1006	0,0855	0,0125	0,650	5,68	6,8	Schwache Indoxylreact.
»	29	2100	1010	0,095	0,015	0,630	4,62	6,3	etwas stärker. Indoxylreact.
»	30	2400	1007	0,1173	0,0067	0,322	5,95	17,5	¼ Pfund Käse Vor- und Nachmittags.
»	31	2000	1009	—	0,008	0,416	—	—	
Aug.	1	3000	1007	0,0635	0,006	0,360	4,177	10,6	
»	2	2000	1013	0,0713	0,0035	0,140	2,992	20,4	
»	3	3800	1018	0,0548	0,004	0,304	4,469	13,7	
»	4	3000	1010	0,1165	0,0095	0,570	7,56	12,0	Kein Käse.
»	5	1800	1007	0,0923	0,0032	0,115	3,438	29,0	¼ Pfund Käse Vor- und Nachmittags.
»	6	1940	1010	0,1365	0,0055	0,214	5,537	25,0	

Wie aus der Tabelle hervorgeht, erfährt die Menge der Aetherschwefelsäuren an manchen Tagen eine sehr bedeutende Abnahme. So sehen wir an einem Tage dieselbe von im Mittel 0,640 auf 0,115 herabgehen, was annähernd den 6. Theil der normalen Menge ausmacht. Die Verhältnisszahlen stehen damit im Einklang, indem sie in 2 Fällen sogar die Höhe von 25 und 29 erreichen. In dieser Versuchsreihe macht sich die Vermehrung der präformirten Schwefelsäure weniger bemerkbar, was mit der verhältnissmässig geringen Menge des zugeführten Käses in Zusammenhang zu bringen ist. In diesem Falle hat also die Bestimmung der Verhältnisszahl eher einen Werth als in den übrigen vorher angestellten Versuchen.

Auffallend dürfte hier der Umstand sein, dass der Käse vom 1.—4. Aug. eine vermehrte Harnsecretion hervorrief, die so deutlich ausgesprochen war, dass der behandelnde Arzt

den Käse am 3. Aug. aussetzen liess, was weiter zur Folge hatte, dass die absoluten Mengen der Aetherschwefelsäuren sich am 4. wieder stark der Norm näherten. Am 5. und 6. wurde ein Nachlassen dieser Wirkung beobachtet.

Tabelle VII.

M. Hornecker. Tuberculosis intestinalis.

Datum.		Harn.		Schwefelsäure als $BaSO_4$ in 50 cbcm.		Schwefelsäure als $BaSO_4$ in der Tagesmenge			
Monat.	Tag.	Menge.	Spec. Gew.	A. aus Sulfaten.	B. aus gepaarter Schwefelsäure.	B. aus gepaarter Schwefels.	A + B aus gepaarter u. präform. Schwefels.	$\frac{A}{B}$	Bemerkungen.
Juli.	27	300	1023	—	0,0885	0,531	—	—	Sehr starke Indoxylreac
»	28	500	1019	0,159	0,058	0,580	2,17	2,74	» » »
»	29	—	—	—	—	—	—	—	» » »
»	30	300	—	—	—	—	—	—	» » »
» Aug.	31 1	1000	1020	0,1925	0,0365	0,730	4,58	5,6	» » »
»	2	280	1025	0,300	0,062	0,346	2,62	5,0	schwächere »
»	3	700	1013	0,1188	0,026	0,364	2,03	4,6	» »
»	4	1100	1014	0,121	0,0195	0,429	3,09	6,2	noch schwächere »
»	5	1200	1010	0,063	0,009	0,198	1,584	7,0	schwache »
»	6	800	1013	0,1145	0,0216	0,344	2,176	5,32	schwache aber deutliche »
»	7	1300	1011	—	—	—	—	—	

Mittags und Abends

Auch aus dieser Tabelle geht ein deutlicher Einfluss des Käses auf die Darmfäulniss hervor. Die absoluten Mengen der Aetherschwefelsäuren gehen von 0,556 (als $BaSO_4$) im Mittel herunter bis auf 0,198, also ungefähr den 3. Theil der normalen Mengen. An anderen Tagen ist die Differenz geringer, aber immer noch gross genug, um auch aus ihnen eine deutliche Wirkung des Käses auf die Darmfäulniss zu erkennen.

Die gesteigerte Harnproduction nach Eingabe von Käse springt auch hier in die Augen. Die Harnmengen steigen von im Mittel 400 bis 900 (als Maximum sogar bis 1300). Es herrscht somit eine Uebereinstimmung mit dem vorigen Fall.

Der letzte Fall zeigte auch, dass der frische Käse gerade bei derartigen Kranken mit gutem Erfolge gegeben werden kann. Hierbei kommt ausser der Herabsetzung der Fäulnissprocesse im Darm wahrscheinlich auch die Anregung der Harnreaction, welche immer in Folge des Genusses von frischem Käse beobachtet wurde, in Betracht. Im vorliegenden Falle hat der behandelnde Arzt Herr Dr. Blum eine merkliche Besserung des allgemeinen Ernährungszustandes nach der Käsediät eintreten sehen. Als störend zeigte sich bei diesen Versuchen indessen der Umstand, dass Patienten, welche zuerst den Käse gerne zu sich nehmen, bald einen Widerwillen gegen seinen Genuss bekommen, wesshalb eine längere fortgesetzte tägliche Darreichung von frischem Käse nicht leicht zu erzielen ist.

Zum Schlusse möchte ich noch mit einigen Worten auf die Methode der Bestimmung der Darmfäulniss zurückkommen. Durch die Ermittelung der Aetherschwefelsäuren im Harn gewinnen wir eine Vorstellung über die Intensität der Eiweissfäulniss im Darm. Im Verdauungstractus unterliegen aber auch Fette und Kohlenhydrate der zersetzenden Wirkung von Spaltpilzen. Es ist im Vorstehenden über einen Fall berichtet worden, wo die Entleerungen eines Hundes nach Käsefütterung nicht minder reich an Spaltpilzen waren als normale Fäces, während im Harn die Aetherschwefelsäuren ganz oder beinahe ganz fehlten, d. h. die Eiweissfäulniss im Darm minimal war. Die Ermittelung der ungefähren Zahl von lebensfähigen Keimen in den Fäces kann somit keine richtige Grundlage für die Beurtheilung der Eiweissfäulniss im Darm ergeben. Für die Ermittelung der letzteren ist bis jetzt wenigstens kein anderer Weg bekannt, als der auch von mir eingeschlagene, die Bestimmung der Aetherschwefelsäuren im Harn. Stern[1]) hat gegen die Benützung dieser Methode geltend gemacht, dass die Ausscheidung der Aetherschwefelsäuren im Harn je nach den Bedingungen der Resorption der aromatischen Fäulnissproducte im Darm verschieden ausfallen könne. Indessen

---

[1]) Ueber Desinfection des Darmkanales, Habilitationsschrift 1892 (Breslau), S. 28.

lehren Versuche von Brieger[1]), welche schon vor geraumer Zeit angestellt sind, dass die aromatischen Producte der Eiweissfäulniss, welche im Darm von Pferden in sehr beträchtlichen Mengen sich bilden, bis hinab in das Rectum so gut wie völlig resorbirt werden, dass bei Hunden das in eine Darmschlinge eingeführte Phenol in kurzer Zeit aus derselben völlig verschwindet. Wenn daher dem Einwande von Stern in dem hier erörterten Sinne eine wesentliche Bedeutung nicht zuzuschreiben ist, so kommt noch ferner in Betracht, dass auf den Organismus selbst immer nur die wirklich resorbirten Substanzen, welche im vorliegenden Falle durch die Aetherschwefelsäure ermittelt werden, von Einfluss sein können.

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 3, S. 147.

Die Beziehung der Salzsäure des Magensaftes zur Darmfäulniss.

Von

Dr. med. **Karl Schmitz**, appr. Arzt aus Köln.

(Aus dem Laboratorium von Prof. Baumann in Freiburg i. B.)
(Der Redaction zugegangen am 4. April 1894.)

Dass die fäulnisswidrige Wirkung des Magensaftes durch seinen Gehalt an freier Salzsäure bedingt wird, ist schon lange bekannt. In neuerer Zeit ist von verschiedenen Seiten der Versuch gemacht worden, zu ermitteln, ob und in wie weit die Fäulnissprocesse im Darm eine natürliche Einschränkung durch die Salzsäure des Magensaftes erfahren.

Kast[1]) war der erste, welcher zur Beantwortung dieser Frage die Bestimmung der Aetherschwefelsäuren im Harn mit und ohne Ausschaltung der Magensalzsäure verwerthete. Dabei ergab sich, dass bei jeder länger dauernden Ausschaltung der freien Säure des Magensaftes (durch Neutralisation mit doppeltkohlens. Natron resp. kohlens. Kalk) eine Steigerung der Aetherschwefelsäureausscheidung, d. i. der Darmfäulniss, eintrat.

Zu ähnlichen Resultaten gelangte Stadelmann[2]) bei seinen Untersuchungen über den Einfluss der Alkalien auf den Stoffwechsel.

Gegen die Beweiskraft der von Kast und von Stadelmann[3]) angestellten Versuche hat v. Noorden den Einwand

---

[1]) Ueber die quantitative Bemessung der antiseptischen Leistungen des Magensaftes, Festschr. z. Eröffnung des N. A. K. Hamburg 1889.

[2]) Ueber den Einfluss der Alkalien auf den menschlichen Stoffwechsel, Stuttgart 1890.

[3]) Zeitschrift für klin. Med., Bd. 17.

erhoben, dass durch die Einführung grosser Mengen von Alkalien in den Magen und Darm veränderte Bedingungen für die Bildung und Resorption von Fäulnissproducten im Darm hergestellt würden. Durch Beobachtungen an Kranken, bei welchen so gut wie vollkommene Anacidität des Magens bestand, wobei eine Vermehrung der Aetherschwefelsäuren im Harn nicht constatirt wurde, gelangte er zu dem Schlusse, dass die Magensalzsäure mit der Desinfection des Darmes nichts zu thun habe.

Zu gleicher Zeit mit Kast hatte auch Wasbutzki[1]) Versuche in Fällen von pathol. verringerten Salzsäuregehalt des Magens angestellt und war hierbei zu ähnlichen Resultaten gelangt, wie der erstgenannte Autor. In letzter Zeit hat sich besonders Biernacki mit Untersuchungen in dieser Richtung befasst und speciell in Nierenleiden, welche mit einer gestörten Magensecretion einhergehen, die Ausscheidungsverhältnisse der Fäulnissproducte im Harn studirt und hierbei gefunden, dass bei Mangel an Salzsäure eine gesteigerte Darmfäulniss stattfindet, und eine Aenderung der letzteren proportional dem veränderten Gehalt des Magens an freier Salzsäure verläuft. Wurde diese Störung der Magenreaction durch Zufuhr von Salzsäure gehoben, so wurden auch die Ausscheidungsverhältnisse der aromatischen Producte im Harn wieder der Norm genähert.

Hiermit hat Biernacki[2]) also die nahe Beziehung der Magensalzsäure zur Darmfäulniss in unanfechtbarer Weise festgestellt.

Noch deutlicher ergeben sich diese Verhältnisse aus Mester's Untersuchungen[3]) über «Magensaft und Darmfäulniss». Den Ausgangspunkt zu seinen Untersuchungen bildeten die Beobachtungen von Cahn, welcher gezeigt hat, dass durch Entziehung des Chlornatriums in der Nahrung die

---

[1]) Ueber den Einfluss von Magengährungen auf die Fäulnissvorgänge im Darmkanal, Archiv für exp. Path. u. Pharmac., Bd. 26.

[2]) D. Archiv f. klinische Med., Bd. 49.

[3]) Ueber Magensaft und Darmfäulniss. Academische Habilitationsschrift. Breslau 1893.

Ausscheidung des Chlors nicht nur im Harn, sondern auch in anderen Secreten, namentlich im Magensaft, aufgehoben wird. Diese Erfahrung, durch Entziehung von Kochsalz in der Nahrung die Quelle der Salzsäurebildung im Magen auf eine so bequeme und einfache Weise auszuschalten, machte Mester zur Grundlage seiner Versuche und begegnet durch diese Versuchsanordnung dem von v. Noorden Kast gegenüber erhobenen Einwand.

Mester verfütterte Fleisch, welches entchlort und, da es bei diesem Process seinen Gehalt an Bacterien grösstentheils eingebüsst hat, durch Liegen an der Luft wieder Microorganismen aufgenommen hatte. Hierbei zeigt sich nun ein wesentlicher Einfluss auf die Darmfäulniss. Dieselbe erfährt eine bedeutende Zunahme bei dieser Ausschaltung des Chlors, erreicht aber wieder die Norm oder geht sogar unter dieselbe, wenn auf's neue Kochsalz zugeführt wird. Durch diesen vollkommenen einwandsfreien Versuch hat die schon von Kast, Stadelmann, Biernacki u. A. vertretene Ansicht von der zwischen Salzsäure des Magensaftes und Darmfäulniss bestehenden Beziehung eine werthvolle Bestätigung erhalten.

Bevor Mester's Arbeit erschien, suchte ich auf Veranlassung von Herrn Prof. Baumann auf einem andern Wege eine Lösung dieser Frage durch einen ebenfalls einwandsfreien Versuch zu erreichen.

Ich ging dabei von dem Gedanken aus, dass, wenn wirklich die Salzsäure des Magensaftes die Darmfäulniss beeinflusst, diese bei Hyperacidität des Magens vielleicht eine noch grössere, also unter die Norm gehende Einschränkung, erfahren könne, dagegen nicht müsse, weil die zur maximalen Wirkung auf die Darmfäulniss erforderliche Menge bereits mit dem normalen Gehalt des Magensaftes an Salzsäure gegeben sein kann. Traf die erstgenannte Vermuthung zu, so war damit auch der directe Beweis für die Desinfection des Darmes durch die Salzsäure des Magensecrets erbracht, verlief der Versuch dagegen negativ, so konnte allerdings auf das Gegentheil — aus dem oben angeführten Grunde — nicht geschlossen werden.

Ich bediente mich bei meinen Versuchen als Massstab für die Darmfäulniss der quantitativen Bestimmung der Aetherschwefelsäuren im Harn mit besonderer Berücksichtigung der absoluten Mengen der letzteren.

Ich stellte meine Versuche zunächst an einem Hunde an, dem vom 8.—16. Febr. täglich 14 cbcm. Normalsalzsäure = ca. $^1/_2$ gr. reiner HCl per Schlundsonde in den nüchternen Magen Morgens um 10 Uhr zugeführt wurden. Gleich hinterher erhielt der Hund $^1/_2$ L. Milch, Nachmittags um 5 Uhr 1 Pfund Pferdefleisch. Das Gewicht des Hundes betrug vor und nach dem Versuche 16 Pfund.

Tabelle I.

Datum.		Harn.		Schwefelsäure als $BaSO_4$ in 50 cbcm. Harn.		Schwefelsäure als $BaSO_4$ pro die.		Gesammtschwefelsäure. pro die.	$\frac{A}{B}$	Bemerkungen
Monat.	Tag.	Menge.	Spec. Gew.	A. aus Sulfaten.	B. aus gepaarter Schwefelsäure.	A. aus Sulfaten.	B. aus gepaarter Schwefelsäure.			
Febr.	5	500	1030	0,232	0,020	2,320	0,200	2,520	11,6	Normaltage
»	6	190	1047	0,736	0,047	2,604	0,199	2,983	16,4	
»	7	545	1027	0,4351	0,0265	—	0,288	—	15,7	
							0,2223			Mittelwerth
»	8	530	1020	0,505	0,0252	2,6574	0,265	2,9224	9,94	
»	9	380	1022	0,320	0,0183	2,4037	0,1651	2,5688	17,5	
»	10	700	1020	0,2033	0,0181	2,8462	0,2534	3,0996	11,3	
»	11	400	1019	0,2478	0,0317	1,9824	0,2536	2,2360	7,82	
»	12	330	1030	0,4745	0,025	3,131	0,165	3,296	18,0	
»	13	420	1020	0,4674	0,0316	3,9266	0,265	4,1916	14,8	
»	14	670	1021	0,2635	0,0155	3,5309	0,2077	3,7386	17,0	
»	15	370	1021	0,3134	0,026	2,3166	0,192	2,5086	12,0	
»	16	500	1092	0,220	0,0247	2,363	0,247	2,61	9,5	

Ein Einfluss der von aussen zugeführten Salzsäure auf die Darmfäulniss geht aus diesen Zahlen absolut nicht hervor. Der normaler Weise ausgeschiedenen im Mittel 0,2223 gr. betragenden Menge der Aetherschwefelsäure (als $BaSO_4$) stehen bei Einfuhr von Salzsäure 0,2237 gr. im Mittel gegenüber, also nahezu gleiche Werthe.

Auch die einzelnen Schwankungen sind sehr gering und eigentlich nur am 6. und 9. vom Mittelwerth etwas abweichend.

Die Verhältnisszahlen von A : B sind bedeutend grösseren Schwankungen unterworfen, jedoch sind ihre Mittelwerthe auch nahezu gleich, sie betragen für die Normalbestimmungen 14, 57 für die Salzsäuretage 13,09.

Tabelle II.

Datum.		Harn.		Schwefelsäure als $BaSO_4$ in 50 cbcm. Harn.		Schwefelsäure als $BaSO_4$ in der Tagesmenge.		Gesammtschwefelsäure als $BaSO_4$ pro die.	A / B.
Monat.	Tag.	Menge.	Spec. Gew.	A. aus Sulfaten.	B. aus gepaarter Schwefelsäure.	A. aus Sulfaten.	B. aus gepaarter Schwefelsäure.		
Febr.	19.	670	1027	0,238	0,032	4,7412	0,2168	4,958	10,6
»	20.	410	1027	0,3152	0,0262	2,5864	0,2096	2,796	12,0
»	21.	385	1030	0,3610	0,0285	2,7942	0,2198	3,014	12,7
»	22.	470	1029	0,4210	0,0315	3,9519	0,2961	4,248	13.0
»	23.	440	1031	0,415	0,033	3,6455	0,2965	3,942	12,6
»	24.	710	1021	0,3262	0,0193	4.6249	0,2741	4,899	16,9

Der Hund bekommt jeden Tag 2 cbcm. conc. HCl in 4 Kapseln, 2 Morgens zwischen dem Fleisch, 2 Nachmittags mit der Milch eingegeben.

Die Verabreichung in Kapseln sollte den Zweck haben, die Resorption der Salzsäure zu verzögern, damit sie im Darm ihre Wirkung besser entfalte.

Doch zeigt sich auch bei dieser Versuchsanordnung keine Beeinflussung der Eiweissfäulniss durch die Salzsäure. Der Mittelwerth der absoluten Menge der Aetherschwefelsäure ist sogar hier noch höher als im vorigen Fall und beträgt 0,252. Der Mittelwerth für die Verhältnisszahlen erreicht knapp 13,0, welcher also mit dem früher erhaltenen nahezu übereinstimmt. Das Gewicht des Hundes war vor und nach dem Versuch 16 Pfund.

Im folgenden Versuche wurde nun die Nahrung des Hundes gewechselt. Er bekommt für die Folge statt des Pferdefleisches 1 Pfund Hundekuchen in einem Liter Wasser gekocht. Letzteres geschah, um die in der Nahrung etwa enthaltenen Fäulnissbacterien zu tödten und so ihren Einfluss zu beseitigen. Zu letzterer Annahme waren wir gelangt

durch die Angabe Rovighi's[1]), dass bei Hundekuchenfütterung gegenüber der Fleischnahrung eine gesteigerte Darmfäulniss stattfände. Der Resultat dieses Versuches enthält folgende Tabelle. Die Salzsäure wird dem Futter beigemischt.

Tabelle III.

Datum.		Harn.		Schwefelsäure als $BaSO_4$ in 50 cbcm. Harn.		Schwefelsäure als $BaSO_4$ pro die.		Gesammtschwefelsäure als $BaSO_4$ pro die.	A/B.	Zusatz zur Nahr
Monat.	Tag.	Menge.	Spec. Gew.	A. aus Sulfaten	B. aus Aether-Schwefelsäure.	A. aus Sulfaten.	B. aus Aether-Schwefelsäure.			
Mai.	17.—18.	365	1028	0,1362	0,0743	0,4982	0,2788	0,776	1,98	2 u. 4 cbcm
»	19.	200	1043	0,176	0,104	0,7024	0,4176	1,120	1,63	4 cbcm.
»	20.	130	1060	0,109	0,143	0,323	0,332	0,655	0,76	4 cbcm.
»	21.	100	1062	0,151	0,096	0,402	0,192	0,594	1,575	6 cbcm.
»	22.	110	1070	—	—	—	—	—	—	6 cbcm.
»	23.	130	1054	0,1056	0,108	0,2742	0,2808	0,555	0,97	6 cbcm.
»	24	170	1032	0,0496	0,0524	0,1688	0,1782	0,347	0,948	6 cbcm.
»	25.	200	1039	0,0686	0,0802	0,2742	0,3208	0,595	0,855	
»	26.	400	1022	0,0731	0,0326	0,5840	0,2608	0,8448	2,24	
»	27.	105	1059	0,200	0,126	0,4196	0,265	0,6846	1,6	
»	28. 29.	400	1026	0,1556	0,124	0,5236	0,1952	0,7188	6,4	Keine Salzsäure mehr.
»	30.	280	1035	0,1182	0.0602	0,663	0,336	0,999	1,973	
»	31.	185	1019	0,035	0,025	0,1295	0,0925	0,222	1,44	
Juni.	1.	215	1053	0,1849	0,0888	0,793	0,3818	0,1748	2,095	
»	2.	200	1038	0,0936	0,0476	0,3744	0,1904	0,5648	1,96	

Auch aus dieser Versuchsreihe lässt sich eine Wirkung der Salzsäure auf die Ausscheidung der Aetherschwefelsäuren nicht erkennen. Die Mittelwerthe betragen von 17.—24., wo Salzsäure gegeben wird, 0,280 gr., vom 25.—31., während welcher Zeit die Salzsäure weggelassen wird, 0,255 gr. Es besteht also zwischen diesen beiden Werthen eine nur unbedeutende Differenz, die weiter keine Beachtung verdient. Auffallend ist hier die im Allgemeinen sehr niedrige Verhältnisszahl von A : B, welche nach Rovighi's Ansicht eine Vermehrung der Darmfäulniss bedeuten würde. Vergleichen wir aber die absoluten Mengen der Aetherschwefelsäuren aus dieser Tabelle mit den vorherigen und der folgenden, so finden

[1]) Diese Zeitschr., Bd. 16, S. 31.

wir nur geringe Abweichungen, wie folgende Zusammenstellung lehrt.

	Tabelle I.	Tabelle II.	Tabelle III.	Tabelle IV.
Durchschnittswerth der Normalbestimmungen	0,2223	—	0,255	0,2595
Durchschnittswerth bei Salzsäurezufuhr	0,2237	0,252	0,280	0,2494
	Pferdefleischfütterung.		Hundekuchenfütterung.	

Die niedrige Verhältnisszahl (A : B) ist somit lediglich eine Folge der durch die Art der Nahrung bedingten verminderten Schwelsäureausscheidung, deren Durchschnittswerth bei Fleischnahrung 3,019 gr. (Tab. I, 9.—17.), bei Hundekuchenfütterung dagegen nur 0,85245 gr. in Form von $BaSO_4$ (Tab. IV, 22. Juni bis 1. Juli) betrug.

Der Hund wird im folgenden Versuch mit 1 Pfund Hundekuchen in einen Liter Wasser aufgeweicht (nicht gekocht) gefüttert. Das Gewicht des Hundes ist 12,25 Pfund und bleibt während des ganzen Versuches nahezu constant.

Tabelle IV.

Harn.		Harn.		Schwefelsäure als $BaSO_4$ in 50 cbcm. Harn.		Schwefelsäure als $BaSO_4$ in der Tagesmenge.		Gesammtschwefelsäure als $BaSO_4$ pro die.	$\frac{A}{B}$	Salzsäurezufuhr.
Monat.	Tag.	Menge.	Spec. Gew.	A. aus Sulfaten.	B. aus Aether-Schwefelsäure.	A. aus Sulfaten.	B. aus Aether-Schwefelsäure.			
Juni.	22.	1000	1013	0,0444	0,021	0,897	0,424	1,321	2,11	Normalbestimmungen.
»	23.	520	1009	0,0553	0,016	0,552	0,166	0,718	3,3	
»	24.	700	1009	0,0267	0,013	0,376	0,182	0,558	2,05	
»	25.	825	1013	0,0516	0,0186	0,275	0,307	0,582	2,8	
»	26.	650	1013	0,0582	0,0168	0,7566	0,2184	0,975	3,49	
»	27.	410	1017	0,054	0,030	0,446	0,243	0,689	1,8	6 cbcm. conc. HCl.
»	28.	760	1011	0,0362	0,0135	0,550	0,205	0,755	2,7	6 » » »
»	29.	800	1019	0,0314	0,0182	0,502	0,291	0,7936	1,72	6 » » »
»	30.	700	1011	0,0383	0,0195	0,5442	0,265	0,8072	1,96	6 » » »
Juli.	1.	650	1014	0,0388	0,0187	0,5045	0,243	0,243	2,10	6 » » »

Auch aus diesem Versuche geht keinerlei Beeinflussung der Darmfäulniss durch überschüssige Salzsäure hervor. Der Mittelwerth der Normalbestimmungen beträgt 0,2595, der bei Salzsäurezufuhr 0,2494. Es ist also vollständig gleichgültig,

ob wir bei unseren Versuchen mit Salzsäurezufuhr gekochten oder bacterienfreien oder ungekochten Hundekuchen wählen. Ein grosser Gehalt von Fäulnissbacterien kann also selbst nicht Ursache der verstärkten Darmfäulniss sein.

Zur Controle wurden von Zwieback, gewöhnlichem Weissbrod und Hundekuchen Plattenculturen angelegt. Hierbei zeigte sich eine nahezu vollständige Uebereinstimmung zwischen dem Bacteriengehalt des Zwiebacks und dem des Hundekuchens, von denen der erstere bekanntlich sehr geringe Mengen an Bacterien enthält.

Das Thierexperiment hatte demnach, wie aus dem vorhergehenden Versuch erhellt, keine Einschränkung der Darmfäulniss bei Zufuhr von Salzsäure ergeben. — Ich ging deshalb zu Versuchen an Menschen über, und stellte diese an mir an, um mir eine möglichst genaue Ausführung derselben zu sichern. — Ich schicke voraus, dass ich nie an Magenstörungen gelitten habe, und somit vollständig normale Bedingungen vorlagen.

Tabelle V.

Datum.		Harn.		Schwefelsäure als $BaSO_4$ in 50 cbcm. Harn.		Schwefelsäure als $BaSO_4$ pro die.		Gesammtschwefelsäure als $BaSO_4$ pro die.	$\frac{A}{B}$.	Bemerkungen.
Monat.	Tag.	Menge.	Spec. Gew.	A. aus Sulfaten.	B. aus Aetherschwefelsäure.	A. aus Sulfaten.	B. aus Aetherschwefelsäure.			
Juli.	10.	1185	1022	—	0,0242	—	0,573	—	—	Normaltage.
»	11.	—	—	—	—	—	—	—	—	
»	12.	1310	1022	—	0,0208	—	0,545	—	—	
»	13.	1000	1027	—	0,0295	—	0,590	—	—	
»	14.	1770	1015	—	0,0192	—	0,680	—	—	
»	15.	—	—	—	—	—	—	—	—	Am Abend d. 15. 20 Tr 10 proc. Salzsäure.
»	16.	1100	1022	—	0,021	—	0,462	—	—	Morg., Mitt., Abends 10 T
»	17.	2000	1015	—	0,0098	—	0,392	—	—	» » »
»	18.	1550	1016	0,2078	0,0135	6,442	0,418	6,860	15,4	» » »
»	18.	2450	1012	0,1440	0,0088	7,459	0,431	7,890	16,4	» » »
»	19.	1550	1020	—	0,0132	—	0.409	—	—	» » »
»	20	1420	1022	—	0,020	—	0,568	—	—	Am Abend vorher keine säure.
»	21.	1050	1026	—	0,0225	—	0,4725	—	—	50 Tropf. Salzsäure. a verschied. Mahlzeiten theilt.

Wie wir nunmehr aus der letzten Tabelle ersehen können, ist jetzt eine deutliche Abnahme der Aetherschwefelsäuren im Harn sichtbar, die, wenn wir den höchsten Normalwerth und den niedrigsten Werth bei Salzsäurezufuhr einander gegenüberstellen, mehr wie 40 % beträgt, im Verhältniss zum Durchschnittswerth der Normalbestimmungen aber immer noch ca. 34 % ausmacht.

Vergleichen wir den Gesammtdurchschnitt vom 10.—14. mit dem vom 16.—22. exclus. Bestimmung vom 21., so finden wir für den ersteren 0,597 gr., für den letzteren 0,431 gr., was also ungefähr noch ca. 28 % ausmacht.

Es liefert dieser Versuch also den Beweis, dass durch Hyperacidität des Magensaftes beim Menschen eine noch ausgiebigere Einschränkung der Darmfäulniss stattfindet, als dies schon normaler Weise geschieht.

Fragen wir uns nun, warum beim Hundeexperiment der beim Menschen festgestellte nicht unbedeutende Ausschlag bei Salzsäurezufuhr nicht eingetreten ist, so müssen wir die Erklärung dafür darin suchen, dass beim Hundemagen bereits eine Hyperacidität normaler Weise besteht, die hinreichend ist, um eine maximale Wirkung auf die Darmfäulniss auszuüben. Wir machen ja auch in unserem letzten Versuche am Menschen die Erfahrung, dass eine Steigerung der Salzsäurezufuhr nicht im Einklang steht mit der Menge der im Harn ausgeschiedenen Fäulnissprodukte, d. h. die letzteren nehmen nicht mehr weiter ab, wenn bereits eine gewisse Menge von Salzsäure zugeführt ist. Wir brauchen ja nur die Bestimmung vom 16.—20. zu vergleichen mit der vom 22. Bei der letzteren wurde nahezu die doppelte Quantität Salzsäure eingenommen, ohne dass hiermit eine noch grössere Abnahme der Aetherschwefelsäure verbunden gewesen wäre. Im Gegentheil übersteigt dieser Werth die bei den früheren Bestimmungen erhobenen Werthe. Diese Erfahrung liefert also in Uebereinstimmung mit der bekannten Thatsache, dass der Hundemagen einen grösseren Ueberschuss an Salzsäure besitzt als der menschliche Magen, die Erklärung für die

gänzlich fehlende Uebereinstimmung des beim Hund und des beim Menschen angestellten Versuches.

Zum Schlusse möchte ich Herrn Prof. Baumann für sein liebenswürdiges Entgegenkommen und seine Unterstützung bei meinen Arbeiten meinen herzlichsten Dank an dieser Stelle abstatten.

Weitere Versuche über die Diffusion von Gasen in Wasser.

Von

F. Hoppe-Seyler.

In einigen Versuchsreihen, welche Herr Cecil Duncan gemeinschaftlich mit mir vor 2 Jahren ausgeführt hat[1]), sind die theoretisch zunächst kaum verwendbaren, aber praktisch nicht unwichtigen Ergebnisse hervorgetreten, dass die atmosphärische Luft bei gewöhnlichem Barometerstand und mittleren Temperaturen an der freien Oberfläche mit einer im Uebrigen abgeschlossenen Wassermasse in Berührung gebracht, mit solcher Langsamkeit in dieselbe eindringt, dass nach 14tägigem Contacte die noch nicht 1 Meter hohe Wassermasse in ihren unteren Schichten kaum zur Hälfte mit absorbirtem Sauerstoff und Stickstoff gesättigt waren, dass ausserdem diese sehr geringe Geschwindigkeit des Eindringens der Gasmolecule in das Wasser mit dem Vorschreiten der Sättigung der Lösung noch mehr und mehr abnahm.

Dieses letztere Resultat konnte allerdings nicht auffallen, ergab aber auch bezüglich der Triebkräfte, welche bei der Lösung der Gase im Wasser ins Spiel kommen, nicht mehr als dass jedenfalls fortlaufende, wenig sich ändernde Einwirkungen, wie z. B. einseitiger Wärmeverlust, die Ursache dieser Erscheinungen nicht sein konnten. Es blieb unentschieden, ob bei der Aufnahme der Gase an der Oberfläche

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. XVII, S. 147.

die sich bildende gasreiche Schicht des Wassers ein höheres spec. Gewicht besitzt und sich dementsprechend nach abwärts senkt, oder ob entsprechend der Tension der Gase eine schnellere oder langsamere Erfüllung der Wassermasse mit den Gasen erfolgt entsprechend der Verbreitung der Wärme in einem homogenen festen Körper. Da aber in den einzelnen am Ende jedes Versuches nach einander unten abgefüllten 4 Wasserportionen nahezu gleiche Quantitäten der Gase gefunden wurden, musste die Ansicht an Wahrscheinlichkeit gewinnen, dass ein Hinabfliessen spec. schwererer Wasserschichten von der Oberfläche her im Wesentlichen die gefundenen Erscheinungen hervorzurufen am Besten geeignet sei.

Da eine weitere Aufklärung über die Ursachen dieses Vorgangs auf dem eingeschlagenen Wege nicht wohl erreichbar schien, wurden diese Versuche mit möglichst gasfreiem Wasser nicht weiter fortgesetzt. Ich habe nun eine neue Versuchsreihe ausgeführt unter Verhältnissen, welche nach Möglichkeit das Hinabfliessen specifisch-schwererer Flüssigkeit von der Oberfläche in die tieferen Wasserschichten ganz verhinderten oder wenigstens im höchsten Maasse zu beschränken geeignet schienen.

Um die Einwirkungen von Temperaturänderungen möglichst auszuschliessen, wurde das Rohr A (dasselbe über 1 Meter lange, senkrecht aufgestellte Glasrohr von ca. 6 cm. Durchmesser, welches für die früheren Versuche verwendet war) mit einem Mantel von sehr blankem Weissblech umgeben und der Zwischenraum zwischen Mantel und Glasrohr mit Watte ausgefüllt. Directe Einwirkung von Temperaturänderungen der Luft auf die Wassermasse konnten an der Oberfläche derselben im oben offenen Rohre wohl stattfinden, musste aber sehr gering bleiben, weil der Eintritt der Luft durch ein enges, mit dickem Kautschukschlauch umgebenes Glasrohr erfolgte, die Luft darin und ebenso in dem Raum, in welchem Rohr A sich befand, fast unbewegt blieb und mit Feuchtigkeit stets nahezu gesättigt war. Für die Versuche wurde nun das destillirte Wasser zuerst $1^1/_2$ Stunde in lebhaftem Sieden erhalten, darauf verschlossen erkalten gelassen,

dann im ersten Versuche CO_2, im zweiten Sauerstoff, im dritten Stickstoff nahezu zur Sättigung eingeleitet. Das Nähere gibt die Beschreibung der einzelnen Versuche. Die Entnahme der zu untersuchenden Wasserproben am Anfang und am Ende jedes Versuchs in die Kochröhren mittelst Quecksilber, so dass diese Wasserportionen mit der atm. Luft nicht in Berührung kommen, ist ebenso ausgeführt, wie in den Versuchen von Herrn C. Duncan und mir, ebenso ist das Auskochen und Auspumpen der Wasserproben mit der Quecksilberpumpe in der früher von mir beschriebenen Weise[1]) vorgenommen.

Bei dem ersten Versuche wurde das $1^1/_2$ Stunde im Sieden erhaltene Wasser nach dem Erkalten durch mehrstündiges Durchleiten von CO_2 ziemlich vollständig mit diesem Gase gesättigt für ca. 20° C. Mit demselben wurde dann das Rohr A von unten her gefüllt und einige Zeit oben überlaufen gelassen, dann das Rohr durch Klemmen oben und unten geschlossen am 24. November 1893 und von Nachmittag bis zum anderen Morgen 10 Uhr stehen gelassen. Dann wurde oben die Klemme geöffnet, so dass atm. Luft zum Inhalt des Rohrs hinzutreten konnte und dann unten aus demselben mittelst Quecksilber ein Kochrohr unten abgefällt zur Untersuchung des Gasgehaltes. Das Auskochen und Auspumpen dieser Probe ergab nur ein so kleines Luftbläschen, welches von Kalilauge nicht absorbirt wurde, dass der Sauerstoff und Stickstoffgehalt dieser Wasserprobe unbestimmbar war.

Das Rohr A blieb nur oben offen vom 25. November Morgens 9 Uhr 55 Min. bis zum 9. December 1893 Morgens 9 Uhr 10 Min. stehen. Täglich wurde Morgens und Nachmittags die Temperatur der Luft in dem Raume, in welchem das Rohr stand, und der Barometerstand in dieser Zeit bestimmt. Die Temperatur beginnend mit 9,6° erhob sich einmal auf 10°, blieb dann zwischen 8,9° bis 9,7° schwankend bis zum 3. December, fiel dann langsam und betrug am Ende des Versuches 7,2°. Das Barometer, meistens den mittleren Stand für Strassburg innehaltend, fiel gleich in den ersten Tagen einmal auf 738,5 mm., stieg dann kurze Zeit bis 763,8 mm.,

[1]) Zeitschr. f. analyt. Chemie, 1892, S. 367.

hielt sich dann lange Zeit zwischen 749 und 759 mm. und fiel am letzten Tage auf 743 mm.

Am 9. December Morgens 9 Uhr 10 Min. wurden vier Kochröhren mittelst Quecksilber langsam vom Rohr A mit der Lösung gefüllt, ohne dieselbe in Berührung mit der atm. Luft zu bringen, und ohne eine störende Bewegung in der Flüssigkeit im Rohre A zu veranlassen. Diese Wasserportionen wurden durch Auskochen und Auspumpen mit der Quecksilberpumpe entgast. Da noch sehr grosse Quantitäten CO_2 im Wasser gelöst waren, musste das Auskochen und Auspumpen gegen 50 mal wiederholt werden, bis die erhaltene Gasquantität verschwindend gering wurde. Die in hohen Absorptionsröhren aufgefangenen Gase wurden von der über Quecksilber eingeführten Natronlauge sofort von CO_2 befreit, erwiesen sich dabei sehr gering, so dass die Messung ihrer Volumina nicht durch die aufgeätzte Scala, sondern durch Aufzeichnung und Wägung der gleichen Volumina von Quecksilber bestimmt werden mussten. Für 1 Liter Wasser berechnet wurden gefunden für 0^0 und 760 mm. Druck 3,087 bis 2,521 cbcm. $O_2 + N_2$ und hierin 0,750 bis 0,7207 cbcm. O_2 und 2,3366 bis 1,7743 cbcm. N_2. Der Stickstoff war sonach relativ reichlicher als der Sauerstoff in den tiefen Schichten des Wassers eingedrungen; die eingedrungenen Sauerstoffvolumina betrugen kaum $^1/_{10}$, die des Stickstoffs dagegen $^1/_8$ der im Wasser von 7 bis 8^0 Temperatur bei voller Sättigung mit atm. Luft gefundenen Volumina dieser Gase.

Die Quantitäten der im Wasser am Ende des Versuchs noch absorbirt enthaltenen CO_2 wurde nicht bestimmt, aber ihre Volumina waren noch recht bedeutend. Die Trägheit, mit welcher die Kohlensäure aus damit mehr oder weniger gesättigtem Wasser entweicht, kann in diesem Versuche als ein erhebliches Hinderniss für die Aufnahme von O_2 und N_2 angesehen werden, jedenfalls musste nach oben hin entsprechend dem in grösserer Nähe der Oberfläche wegen ihres Entweichens in die Atmosphäre abnehmenden Gehalte an CO_2 das spec. Gewicht der oberen Flüssigkeitsschichten geringer sein als in der Tiefe, so dass eine Senkung der oberflächlichen Schichten nicht stattfinden konnte.

Bei dem zweiten Versuche wurde 1½ Stunden im Sieden erhaltenes Wasser in verschlossener Flasche erkalten gelassen, dann Sauerstoff (comprimirtes Gas aus der Fabrik von Elkan, Berlin, mit 6 Vol. p. C. Stickstoffgehalt) mehrere Stunden lang in langsamem Strome durchgeleitet, dann das Wasser mit geringem Ueberdruck von Sauerstoff in das Rohr A übergefüllt, ½ bis 1 Liter oben ablaufen lassen, dann das Rohr A unten und oben geschlossen gegen 24 Stunden stehen gelassen. Am 20. December Morgens 9 bis 10 Uhr wird oben die Klemme am Rohr A geöffnet, so dass die atm. Luft freien Zutritt erhält, unten werden vorsichtig mittelst Quecksilber ohne Zutritt von atm. Luft 2 Kochröhren vom Inhalt des Rohres A abgefüllt und alsbald ausgekocht und ausgepumpt. Während der folgenden Tage vom 20. December Morgens 9½ Uhr ab erhielt sich die Temperatur in dem Raume, in welchem das Rohr angebracht war, längere Zeit auf 9°—8,1°, sank dann gleichmässig bei zum Theil starker Kälte in freier Luft und erhielt sich die letzten 2 Tage auf ungefähr 3°. Der Barometerstand von 742,8 mm. beim Beginn des Versuchs stieg bald auf 760, erhielt sich über eine Woche auf 760—767,3 mm., sank gegen das Ende hin wieder schliesslich auf 744,8 mm.

Am 6. Januar Morgens 9 Uhr 35 Min. wurden 4 Kochröhren mittelst Quecksilber ohne Zutritt der atm. Luft von Rohr A unten abgefüllt, ausgekocht und mit der Quecksilberpumpe ausgepumpt.

Am Anfang des Versuchs hatte das Wasser im Rohr A im Liter berechnet für 0° und 760 mm. Druck enthalten:

O_2 31,445 cbcm.
N_2 1,360 »

Am Ende des Versuchs nach 17tägigem Stehen bei oben offenem Zutritt der atm. Luft enthielt 1 Liter Wasser berechnet für 0° 760 mm. Druck:

unterste Schicht	1. Kochröhre	O_2	29,569	und	N_2	2,085 cbcm.
zweite darüber	2. »	»	29,599	»	»	1,986 »
dritte »	3. »	»	29,628	»	»	2,213 »
vierte »	4. »	»	27,415	»	»	3,469 »

Daneben wurden 0;406 bis 0,616 cbcm CO_2 in der Röhre für 1 Liter Wasser berechnet für 0° und 760 mm. Dr. gefunden.

Für den dritten Versuch wurde das destillirte Wasser nach 1½ stündigem starken Sieden und nachherigem Erkalten in geschlossener Flasche bis 20° bei langsamem Durchleiten des Gases mit Stickstoff gesättigt. Das hierzu erforderliche Gas war dargestellt aus Kaliumnitrit 34 gr. und Ammoniaksulfat 26 gr. mit Zusatz von Kaliumbichromat zur Lösung bis zum deutlichen Beginn der Orangefärbung der Mischung und Erhitzen in Kolben auf dem Wasserbade. Die Entwickelung erfolgte bei nicht zu schnellem Erhitzen und nicht zu grossem Ueberschuss von Kaliumbichromat ruhig und doch schnell genug, lieferte circa 4½—5 Liter Gas. Es wurden 50—60 Liter Stickstoff dargestellt, welche neben 100 Vol. N_2 enthielten 3,882 Vol. O_2. Nachdem das Rohr A mit dem bis 20° erkalteten, bei dieser Temperatur mit N_2-Gas gesättigten, dann in verschlossener Flasche weiter erkalteten Wasser gefüllt und ½ bis 1 Liter davon oben übergelaufen war, wurde unten und oben mit Klemme geschlossen und bis zum folgenden Tage stehen gelassen. Nach Oeffnung der oberen Klemme wurden unten über Quecksilber 2 Kochröhren abgefüllt, ohne Zutritt von atm. Luft, die Gase aus denselben durch Auskochen und Auspumpen gewonnen und analysirt. Das Rohr A stand dann unten geschlossen, oben offen vom 4. bis zum 24. Februar Morgens 9 Uhr 34 Min. Es wurden dann 4 Kochröhren mittelst Quecksilber ohne Luftzutritt unten abgefüllt, ausgekocht und ausgepumpt und die Gase analysirt. Während der 20 Tage, welche das Rohr A grösstentheils gefüllt mit dem bei circa 20° mit Stickstoff gesättigten Wasser bei freiem Zutritt der atm. Luft gestanden hat, ist die Temperatur des Raumes von 9° gestiegen allmälig auf 10,7°, dann langsam gesunken bis 7,2°, am Ende 7,6°. Das Barometer im Anfang 764,8 mm. Druck zeigend ist allmälig auf 745 mm. gefallen, dann gestiegen bis 761,5 mm. und gegen Ende des Versuchs gefallen bis 748,0 mm.

Bei Beginn des Versuches waren in 1 Liter Wasser im Rohr A gefunden:

ein Gehalt von O_2 1,210 cbcm. berechnet für 0° 760 mm. Druck,
» » » N_2 15,251 » » » » » »

Am Ende des Versuches wurden gefunden für 1 Liter Wasser (berechnet für 0° 760 mm. Druck) in der

		O_2	N_2.
untersten Schicht	(1. Kochrohr)	3,820 cbcm.,	15,780 cbcm.,
zweiten »	(2. »)	3,844 »	15,912 »
dritten »	(3. »)	3,8996 »	15,458 »
vierten »	(4. »)	4,230 »	15,821 »

Daneben für 1 Liter Wasser 0,617 bis 1,186 cbcm. CO_2.

Die Erwägungen, welche zur Anordnung des Versuches in der beschriebenen Weise geführt hatten, entsprachen der Absicht, eine Flüssigkeit herzustellen, in welcher der Gehalt an Stickstoffgas ungefähr demjenigen gleich war, wie er bei der herrschenden Temperatur und Barometerstand beim anhaltenden Schütteln mit atmosphärischer Luft erhalten wird, während zugleich das Volumen des absorbirten Sauerstoffs möglichst gering blieb und andere Gase fehlten. Es konnte dies auf verschiedenem Wege erreicht werden; scheinbar am Einfachsten durch eine Mischung von 79 Vol. mit N_2 bei dem betreffenden Barometerstand und der gewählten Temperatur gesättigten Wasser mit 21 Vol. ausgekochten, gasfreien Wasser derselben Temperatur. So einfach die Ausführung dieser Aufgabe auf den ersten Blick zu sein scheint, zeigen sich doch bei näherer Ueberlegung ernste Schwierigkeiten in der practischen Ausführung. Ich zog daher einen noch einfacheren Weg vor. Nach den Untersuchungen von Dittmar, Hamberg, Pettersson und Sondén absorbirt Wasser bei 20° aus einer reinen Stickstoffatmosphäre von 760 mm. Druck soviel Stickstoff, als bei 7° bis 8° aus der Atmosphäre von diesem Gase neben Sauerstoff aufgenommen wird. Da ich nun glaubte darauf rechnen zu können, dass diese letztere Temperatur bei dem Versuche im betreffenden Kellerraume des physiologisch-chemischen Instituts zu Gebote stehen würde, habe ich das ausgekochte Wasser bei der Temperatur von 20° mit Stickstoff gesättigt. Das eingeleitete Stickstoffgas enthielt, wie angegeben ist, ein wenig Sauerstoffgas, dies konnte aber in sofern nur günstig sein, als hierdurch eine Uebersättigung mit Stickstoffgas vermieden wurde, die ohne diesen Sauerstoffgehalt beim Durchleiten von Stickstoff leicht hätte eintreten

können. Wie die Ergebnisse des Versuches bewiesen, ist während der 20tägigen Einwirkung der atm. Luft an der Oberfläche des Wassers noch ein wenig Stickstoff aufgenommen, während zugleich viel reichlicher die Sauerstoffaufnahme erfolgt ist. Der Sauerstoff der Luft hat fast mit seinem vollen Atmosphärendruck $o = \frac{21 (b - d)}{100}$[1] in das Wasser eindringen können, während der Stickstoffgasdruck im Wasser nahezu dem der auf das Wasser einwirkenden atm. Luft $n = \frac{79 (b - d)}{100}$[1] entsprochen hat, so dass Stickstoffgas im Wesentlichen weder ein- noch ausgetreten ist.

Hätte der Versuch so lange fortgesetzt werden können, bis die Bewegung des Sauerstoffs aus der obersten Wasserschicht in die tieferen Schichten aufhörte, so würde das Wasser neben den 15 cbcm. N_2 im Liter noch ungefähr 8 cbcm. Sauerstoff enthalten haben. Hierzu haben 20 Tage nicht hingereicht, nur die Hälfte dieser Quantität Sauerstoff findet sich in der obersten der untersuchten Wasserschichten, welche durch Kochröhren unten aus Rohr A am Ende des Versuches entzogen sind.

Sehr bestimmt erkennt man in diesem Versuche das Vordringen des Sauerstoffs aus der atm. Luft allmälig abwärts in die tieferen Schichten des Wassers. Es hatten aufgenommen nach 20tägiger Diffusion:

Die unterste Schicht . . .	2,6099	cbcm. für 1 Liter Wasser,
» » » darüber .	2,6335	» » » »
» » » » .	2,6893	» » » »
» » » » .	3,0195	» » » »

Der Sauerstoffgehalt in den darüber befindlichen Schichten wird noch weiter und weiter angestiegen sein; er wurde nicht untersucht, weil je weiter das Wasser im Rohr A beim Abfüllen sinkt, Störungen durch schraubenförmige Bewegungen

[1]) o = Sauerstoffpartialdruck; n = Stickstoffpartialdruck; b = Barometerstand; d = Tension des Wasserdampfes für die herrschende Temperatur. Die Luft an der Wasseroberfläche ist natürlich stets mit Wasserdampf gesättigt.

des Wassers sich mehr und mehr einstellen können. Jedenfalls spricht das erhaltene Resultat sehr entschieden gegen eine Mischung und Hinabsenkung oberflächlicher spec. schwererer mit Sauerstoff beladener Schichten.

Auch im zweiten Versuche, in dem das Wasser mit O_2 gesättigt der atm. Luft dargeboten war, erwies sich die Einwanderung des Stickstoffs sehr erkennbar geringer in den untersuchten unteren Portionen, als in den höher gelegenen Schichten. Es sind hier in 17 Tagen nach abwärts geflossen für je 1 Liter Lösung:

in der untersten Schicht . . .	0,725 cbcm.	N_2-Gas,
in die nächsthöhere	0.626	» »
in die darüber	0,853	» »
in die höchstuntersuchte. . .	2.009	» »

Der Sprung von 0,853 cbcm. Stickstoff in der dritten, zu 2,0 cbcm. in der vierten Schicht kann wohl zum Theil auf Störungen beim Ablassen der Portionen beruhen, obwohl die Abfüllung mit grosser Ruhe und ohne erkennbare störende Einwirkung ausgeführt ist.

Die letzten Versuche und ihre Ergebnisse führen zurück zu den Fragen, von denen diese ganzen Untersuchungen ausgegangen sind, und führen zugleich zu ihrer vorläufigen und beschränkten Beantwortung. Die letztere genügt mir für die Zwecke, welche ich beim Beginn der Versuche im Auge hatte. Ich habe jetzt nicht die Absicht, diese Versuche fortzusetzen; sie ergaben die ersten Anhaltspunkte auf einem noch unerforschten Gebiete, die weitere Untersuchung bedarf feinerer und leichter zu handhabender Mittel der Bestimmung des Gehaltes an den einzelnen Gasen in den Flüssigkeiten, als die hier angewendeten, mühsamen und unbeholfenen quantitativen Gewinnungsmethoden der Gasquantitäten aus den Flüssigkeiten und ihrer Analysen. Man hat wohl versucht, über das Vorschreiten des Sauerstoffs in Flüssigkeiten durch Farbenreactionen leichter zu beobachtende Ausweise zu erhalten; dieselben sind ganz unbrauchbar, weil sie Sauer-

stoff verbrauchen. Ich habe früher und wohl zuerst mich des Blutfarbstoffes und der Indigoweisssulfonsäure bedient, aber mit dem Bewusstsein, dass an quantitative Bestimmung hierbei nicht zu denken ist. Die neuere Physik besitzt Mittel und Wege genug, von denen man hoffen darf, dass ihre Anwendung zum Zweck der Messung des Fortschreitens der Bewegung der Gasmolecule in den sie absorbirenden Flüssigkeiten genauere Resultate zu fördern und insbesondere klar zu legen im Stande sein wird, ob diese Verbreitung der Gastheilchen in einem einfachen formulirten Ausdruck hinsichtlich ihrer Abhängigkeit von der Tension der Gase, Absorptionscoefficienten, Beweglichkeit der Flüssigkeitstheilchen etc. dargestellt werden kann.

Es mag hier noch bemerkt werden, dass bei den beschriebenen Versuchen im Beginn das Rohr A mit dem Wasser ganz gefüllt war und 3780 cbcm. davon enthielt. Es wurden zunächst nach dem Oeffnen der Klemme am oberen Ansatzröhrchen und Zutritt der atm. Luft bei den letzten beiden Versuchen 2 Kochröhren vom Inhalt unten abgefüllt im Betrage von 889,483 cbcm. Wasser. Es blieben also 2890,5 cbcm. Wasser im Rohr A zurück, welches an einer Oberfläche von 33,17 qcm. der atm. Luft während der angegebenen Versuchsdauer ausgesetzt blieb. Am Ende der Versuche wurden 4 Kochröhren nach einander unten von Rohr A abgefüllt, die erste von 453,092 cbcm., die zweite von 436,391 cbcm., die dritte von 409,208 cbcm., die vierte von 444,850 cbcm. Inhalt. Es blieben dann im Rohr A noch 1146,976 cbcm. Wasser zurück, welches auf den Gasgehalt nicht untersucht wurde. Am Ende des dritten Versuchs, also nach 20tägiger Einwirkung der atm. Luft, hatten von der Oberfläche her einen Weg von 333 mm. abwärts zurückgelegt 4,7750 cbcm. O_2, von dieser Gasmasse waren 3,432 cbcm. weiter eingedrungen über 462 mm. Entfernung von der Oberfläche hinaus; von dieser Quantität Sauerstoff waren 2,33 cbcm. über 570 mm. hinausgewandert und von dieser Gasquantität waren 1,183 cbcm. O_2 in den untersten Raum, welcher 708 bis 840 mm. von der Oberfläche entfernt

war, eingetreten. Alle die Gasmengen sind für 0° und 760 mm. Druck berechnet.

So wie hier die Geschwindigkeit der Einwanderung der Gastheilchen in das Wasser eine sehr langsame ist, zeigt sich auch die gleiche Erscheinung im zweiten Versuche hinsichtlich der Auswanderung der Sauerstoffgasmolecule aus dem Wasser in die Atmosphäre, in welcher die Sauerstofftension nur ungefähr $^1/_5$ derjenigen Spannung beträgt, welche das im Wasser absorbirte Sauerstoffgas am Anfang des Versuchs besessen hat.

Die Tiefen der Seen und Meere würden ein reiches Thierleben nicht beherbergen und die Organismen, auch die nicht im Wasser lebenden, würden nicht existieren können, wenn die Diffusion des Sauerstoffs in ruhender Flüssigkeit allein das Gas ihnen zuführen sollte. Alle die mannigfaltigen Bewegungen der Respirations- und Circulationsapparate dienen zwar vielfach zugleich anderen Functionen, in erster Linie aber der gleichmässigen und reichlichen Zufuhr des unentbehrlichen Sauerstoffgases in dem umgebenden Wasser, sowie in den Körperflüssigkeiten. Eine besonders wirksame Einwirkung scheinen gerade in dieser Beziehung die rothen Blutkörperchen bei der Blutcirculation zu haben, indem sie nicht allein viel O_2 enthalten und leicht abgeben, sondern bei ihrer wirbelnden Bewegung auch in dem Plasma des Blutes die Diffusion und Uebertragung des O_2 und der CO_2 veranlassen. Es ist hier nicht der Platz, auf diese Beziehungen näher einzugehen.

Ueber die chemischen Aenderungen der Lebensprocesse in Folge von Sauerstoffmangel.

IV. Mittheilung.

Von

T. Araki.

(Aus dem physiologisch-chemischen Institut zu Strassburg.)
(Der Redaction zugegangen am 24. April 1894.)

In Band 15 dieser Zeitschrift, Seite 335, 1890, sind als constante Wirkungen des Sauerstoffmangels im Organismus von gesunden und gut genährten Säugethieren, Vögeln und Amphibien (Frösche) durch eine nicht geringe Zahl von geschilderten Versuchen von mir nachgewiesen: Uebergang in den Harn von coagulirbaren Eiweissstoffen, Glycose und Milchsäure. Die Ausführung dieser Versuche ist eine so einfache, die Menge der ausgeschiedenen Eiweissstoffe, besonders aber der Glycose und der Milchsäure bei gutgeführten Versuchen so reichlich, dass irgend ein Zweifel an dem Auftreten dieser Stoffe als Folge des Sauerstoffmangels gar nicht möglich ist. Es hätte in dieser Hinsicht nicht weiterer Versuche bedurft, wohl aber erschienen dieselben nöthig, zu prüfen, ob nicht verschiedene Einwirkungen narkotischer Stoffe und anderer Gifte auf den Organismus oder krankhafte Veränderungen desselben mehr oder weniger auf den auftretenden Sauerstoffmangel zurückgeführt werden müssten. Es war ausserdem die Herkunft dieser im Harn ausgeschiedenen Stoffe und die mit ihnen zusammen ausgeschiedenen weiteren Substanzen und die durch diese Körper hervorgerufenen Aenderungen in der Zusammensetzung der Organe, des Blutes und des

Harnes zu untersuchen. Die weiteren Mittheilungen von mir zunächst schon in der oben citirten Abhandlung, dann in meinen Arbeiten Bd. 15, S. 201, Bd. 16, S. 425, Bd. 17, S. 311, ausserdem die Mittheilungen der Herren Zillessen und Irisawa haben dargelegt, dass ausser dem CO auch Morphin, Curarin, Amylnitrit, Blausäure, Strychnin, Veratrin die Erscheinungen des Sauerstoffmangels herbeiführen, dass starke Abkühlung der Thiere sie hervorruft, während bei Vergiftung mit Phosphor oder Arsen diese Erscheinungen ganz inconstant sind und insbesondere keine Beziehungen zu den Erkrankungen der Leber zeigen.

Im Folgenden sollen nun zunächst die weiteren Versuche und ihre Ergebnisse geschildert werden, die Besprechung der aus ihnen zu folgenden Schlüsse nachher im Zusammenhange mit Hinweis auf die eigenen Versuche Platz finden.

I. Ueber den Einfluss grosser Blutverluste auf den Zucker- und Milchsäuregehalt im Blute und Harn.

Cl. Bernard[1]) gibt an: «La saignée augmente la proportion du sucre dans le sang; lorsqu'on voudra donc déterminer la quantité normale du sucre dans le sang, si l'on pratique une saignée un peu considérable, il sera important d'opérer le dosage sur les premières portions du sang extrait, si l'on ne veut s'exposer à trouver un chiffre trop fort». Mering[2]) fand, dass nach wiederholten Aderlässen der Zuckergehalt des Blutserums sich erheblich steigert. Neuerdings ist es Irisawa[3]) gelungen, durch einfache Blutentziehung eine Zunahme des Zucker- und Milchsäuregehaltes im Blute zu erzeugen.

Obwohl es aus den oben angeführten Thatsachen vorausgesetzt werden konnte, dass successive Blutentziehung den Uebergang von Zucker und Milchsäure in den Harn herbeizuführen im Stande wären, so blieben doch die Versuche, welche in dieser Richtung von mir ausgeführt wurden, meistens erfolglos.

---

1) Leçons sur le diabète et la Glycogenèse animale, 1877, p. 210.
2) Archiv für Anat. und Physiol. Physiol. Abth., S. 379, 1877.
3) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 17, S. 340.

1. Versuch. 23. Juni 1892. Einem 1750 gr. schweren Kaninchen wurden 1 Uhr Mittags 32 cbcm. Blut aus der linken Carotis entzogen, um 6 Uhr wieder 20 cbcm. Blut aus derselben Carotis, am 24. Juni 9 Uhr Vormittags 34 cbcm. Blut aus der rechten Carotis. Der nach dem letzten Aderlasse entleerte Harn (23 cbcm.) enthielt etwas Eiweiss, reducirte alkalische Kupferlösung und bildete mit alkalischer Lösung von Orthophenylnitropropiolsäure Indigo. Im Uebrigen fand sich im entleerten Harne kein abnormer Körper.

2. Versuch. 26. Juni 1892. Einem Kaninchen wurden 9 Uhr Vormittags 47 cbcm. Blut aus der linken Carotis entzogen, 4 Uhr Nachmittags 18 cbcm. Blut aus derselben Carotis. Das Thier wurde nun sehr schwach und frass gar nichts. Der darauf entleerte Harn enthielt etwas Eiweiss und reducirte etwas stärker alkal. Kupferlösung, wie sonst. Am 27. Juni 3 Uhr 25 Min. wurden noch 37 cbcm. Blut aus der rechten Carotis entnommen, 2 Stunden später war das Thier todt.

Aus den Harnportionen, welche das Thier vom 26. Juni 6 Uhr bis zum Tode entleerte, zusammen 218 cbcm., wurden 0,43 gr. Zinksalz dargestellt, dessen Zinkgehalt ziemlich gut mit dem des Zinklactates übereinstimmte.

0,153 gr. Substanz gaben 0,049 gr. Zinkoxyd = 0,039 gr. Zn.

Berechnet:	Gefunden:
26,74 %	25,70 % Zn.

3. Versuch. 28. Juni 1892. Einem 1830 gr. schweren Kaninchen wurden 9 Uhr Vormittags 59 cbcm. Blut aus der linken Carotis entzogen. Nach der Operation war das Thier sehr schwach und um 3 Uhr Nachmittags todt. Der aus der Harnblase entnommene Harn enthielt viel Eiweiss, gab die Biuretreaction, aber enthielt keinen Zucker und keine Milchsäure.

4. Versuch. 3. November 1892. Einem Kaninchen von 2010 gr. Körpergewicht wurden 11 Uhr Vormittags 60 cbcm. Blut aus der linken Carotis entzogen. Um 4 Uhr Nachmittags wurde das Thier todt im Kasten aufgefunden. Der aus der Harnblase entnommene Harn, 20 cbcm., enthielt Eiweiss reichlich, gab die Biuretreaction, aber enthielt keinen Zucker und keine Milchsäure.

B. Versuche an Hunden.

5. Versuch. 8. Juli 1892. Einem 13,500 Kgr. schweren Hunde wurden 10 Uhr Vormittags 360 cbcm. Blut aus der linken Carotis entnommen, am folgenden Tage 11 Uhr Vormittags 275 cbcm. Blut aus derselben Carotis. Am 11. Juli 9 Uhr Vormittags 300 cbcm. Blut aus der rechten Carotis entnommen.

Der Harn war vollkommen frei von abnormen Bestandtheilen.

6. Versuch. 15. Juli 1892. Einem Hunde von 6,12 Kilo Körpergewicht wurden 2 Uhr 20 Min. Nachmittags 175 cbcm. Blut aus der linken Carotis, am 16. Juli 9 Uhr 30 Min. Vorm. 200 cbcm. Blut aus derselben Carotis, am 18. Juli 12 Uhr Vormittags 80 cbcm. Blut aus der rechten Carotis entzogen.

Am 19. Juli wurde der Hund todt im Käfig gefunden. Der Harn enthielt etwas Eiweiss, aber keinen Zucker, auf Milchsäure wurde er nicht untersucht.

7. Versuch. 27. Juli 1892. Einer 3,36 Kilo schweren Hündin wurden 11 Uhr Vormittags 125 cbcm. Blut aus der linken Carotis entnommen, am 28. Juli 10 Uhr Vormittags 100 cbcm. Blut aus derselben Carotis. Aus dieser letzten Blutportion wurden 0,020 gr. Zinklactat dargestellt. Der Harn, den die Hündin am 28. Juli 6 Uhr 20 Min. Nachmittags lieferte, enthielt etwas Eiweiss und reducirte ziemlich stark alkalische Kupferlösung; aber es war keine Spur von Milchsäure nachzuweisen.

8. Versuch. 24. October 1892. Einem Hund von 12,2 Kilo Körpergewicht wurden 4 Uhr Nachmittags 300 cbcm. Blut aus der linken Carotis entnommen; 25. October 4 Uhr Nachmittags 310 cbcm. Blut aus derselben Carotis. 2 Stunden nachher war das Thier todt.

In der Blase wurden 50 cbcm. Urin gefunden, der reichlich Eiweiss, aber keinen Zucker enthielt.

9. Versuch. 2. November 1892. Einem Hund von 12,45 Kilo Körpergewicht wurden um 9 Uhr Vormittags 370 cbcm. Blut aus der linken Carotis entzogen. Am 3. November enthielt der Harn des Hundes, 200 cbcm., weder

Eiweiss noch Zucker noch Milchsäure. Um 11 Uhr Vormittags wurden 325 cbcm. Blut aus der linken Carotis entnommen. Am 4. November, der in der Nacht entleerte Harn enthielt wenig Eiweiss, reducirte alkalische Kupferlösung, gab aber keine Krystalle von Glycosazon.

Aus den mitgetheilten Versuchen geht hervor, dass das Auftreten von Zucker und Milchsäure im Harne sich nicht mit Sicherheit nachweisen liess, selbst wenn die Thiere in Folge der grossen Blutverluste zu Grunde gegangen waren. Der Harn, der nach dem Tode des Thieres in der Harnblase gefunden wurde, enthielt stets Eiweiss in grösserer oder geringerer Menge und gab oft die Biuretreaction.

Wenn eine Steigerung des Zucker- und Milchsäuregehalts im Blute sich in Folge der Blutentziehung constant beobachten lässt, und das Blut befähigt scheint, den Ueberschuss dieser Bestandtheile durch die Nieren zu eliminiren, so wird man fragen müssen, warum der Harn, den das Thier nach grossen Blutverlusten entleert, stets frei von denselben sei. Eine befriedigende Erklärung hierfür kann nur gefunden werden durch nähere Untersuchung der Veränderungen, welche die Blutcirculation (Blutdruck, Herzthätigkeit, Durchblutung der Nieren etc.) in Folge starker Blutverluste erleidet. In der letzten VIII. Abtheilung dieser Abhandlung S. 465 bis S. 475 ist hierüber das Nähere besprochen.

II. Ueber die Alkalescenz des Blutes und den Glycogengehalt der Leber bei CO-Vergiftung und bei zu geringem Sauerstoffgehalt der geathmeten Luft.

Nachdem O. Nasse[1]) dargethan hatte, dass im Allgemeinen in Froschmuskeln mit der ursprünglichen vorhandenen Menge von Glycogen die Säuremenge steigt und auch bei Kaninchen in den verschiedenen Muskeln hoher Säuregehalt mit hohem Glycogengehalt zusammenfällt, darf mit Sicherheit angenommen werden, dass Fleischmilchsäure aus Glycogen entsteht. Dafür spricht schon der Umstand, dass beim[2])

[1]) Hermann, Handbuch d. Physiol., Bd. I.

[2]) Demant, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. III, S. 381. Heffter, Archiv f. exp. Path. u. Pharm., Bd. XXXI, S. 251.

hungernden Thiere die Milchsäure in Muskeln erheblich abnimmt. Aus Versuchen von M. Ekunia[1]) geht hervor, dass bei 8—13tägigem Erwärmen einer mit Pankreas oder Lebersaft versetzten Lösung von chemisch-reinem Glycogen auf 40° C. die zwei Milchsäuren, Gährungs- und Fleischmilchsäure, entstanden sind. Berlinerblau[2]), der die Angabe von Gaglio bestätigt und die Milchsäure als normalen Bestandtheil des Blutes betrachtet hat, erwähnt eine Vermehrung der Milchsäure im venösen Blute, welche nach der Einführung des Glycogens in den Arterien eintrat.

Es ist daher von vornherein höchst wahrscheinlich, dass die von uns beim Sauerstoffmangel gefundene Milchsäure und Zuckerausscheidung im Harne mit Glycogenverbrauch im Organismus in gewissem Zusammenhang steht, um so mehr, als es durch eine Reihe von sorgfältigen Versuchen festgestellt worden ist, dass starkes Abkühlen[3]) und Amylnitrit-Vergiftung[4]), wobei die Milchsäure in reichlicher Menge im Harne[5]) auftritt, den völligen Schwund des Glycogens bewirken.

Seitdem Lassar[6]) beobachtet hatte, dass bei Säurezufuhr die Alkalescenz des Blutes, insbesondere beim Kaninchen, bedeutend herabgesetzt wurde, und von Walter[7]) erkannt war, dass nach Eingabe von verdünnten Mineralsäuren bei Kaninchen eine starke Abnahme des CO_2-Gehaltes im Blute stattfand, besteht kein Zweifel mehr darüber, dass die Mineralsäuren alkalientziehend auf den Organismus einwirken und dass die dabei eintretenden Störungen des Centralnervensystems wohl als Folge der Alkaliarmuth anzusehen sind. Dieselbe Wirkung kommt auch organischen Säuren zu. Untersuchungen über die Alkalescenz des Blutes von H. Meyer[8])

---

[1]) Journal für prakt. Chemie, Bd. 21, S. 478.
[2]) Archiv für exper. Path. u. Pharm., Bd. 23, S. 333.
[3]) Külz, Pflüger's Archiv, Bd. 24, S. 46.
[4]) Kinokoff, Jahresberichte der Thierchemie, 1876, S. 198.
[5]) Araki, Zeitschrift für physiol. Chemie, Bd. XVI, S. 453.
[6]) Pflüger's Archiv, Bd. 9, S. 46.
[7]) Archiv für experiment. Path. u. Pharmak., Bd. VII, S. 149.
[8]) Archiv für experiment. Pathol. u. Pharm., Bd. XVII, S. 304.

lehrten, dass eine Verminderung des CO_2-Gehaltes im Blute von einem mit arseniger Säure vergifteten Hunde auf dabei gebildete Milchsäure zu beziehen sei. Ebenso ist es auch eine bekannte Thatsache, dass in schweren Fällen des Diabetes[1]) eine erhebliche Alkalescenzabnahme des Blutes mit dem Auftreten von β-Oxybuttersäure ein constantes Symptom bildet.

Wenn also bei Sauerstoffmangel der Organismus Alkalien zu Neutralisation der neugebildeten Milchsäure abgibt und die letztere als Alkalisalz im Harne ausgeschieden wird, so ist es selbstverständlich, dass hier auch eine Alkalescenzabnahme des Blutes sich geltend machen muss. Obgleich der Befund von Hammarsten[2]) schon vorliegt, dass bei CO-Vergiftung die Alkalescenz des Blutes abnimmt, und die in meinen Untersuchungen bei dieser Vergiftung constant gefundene Milchsäurebildung ohne Zweifel für diese Alkalientziehung eine genügende Erklärung zu geben vermag, muss es doch als unerlässlich angesehen werden, den strikten Nachweis durch Versuche zu führen, in wie weit überhaupt der Sauerstoffmangel einen entschiedenen Einfluss auf die Alkalescenz des Blutes ausübt und wie stark dieselbe bei CO- und Amylnitritvergiftung etc. vermindert ist.

Als Versuchsobject habe ich mich ausschliesslich der Kaninchen bedient, da bei mehreren Versuchen dies Thier sich als das geeignetste erwiesen hat.

Zur Bestimmung der Alkalescenz wurde das Blut direct aus der Carotis in einer vorher gemessenen Portion concentrirter Natriumsulfatlösung aufgefangen und mit $^1/_{10}$ Normaloxalsäurelösung titrirt. Mit sehr empfindlichem Lacmuspapier wurde die Endreaction geprüft.

Zur Bestimmung des Gehaltes der Leber an Glycogen und an Milchsäure verfuhr ich folgendermassen:

Die Leber wurde schnell gewogen, in siedendes Wasser geworfen, zerkleinert, nach $^1/_2$stündigem Kochen wieder zerdrückt und mehrmals mit Wasser ausgekocht. Die vereinigten

---

[1]) Minkowski, Archiv f. experim. Pathol. u. Pharmakol., Bd. 18, S. 147, 1884.

[2]) Lehrbuch der physiol. Chemie, S. 64.

Wasserauszüge wurden dann auf dem Wasserbade genügend stark concentrirt und mit Alkohol gefällt. Nach dem Abfiltriren wurde der Rückstand, welcher das Glycogen und viel Eiweissstoffe enthielt, wieder in Wasser aufgelöst und zur Bestimmung des Glycogens (nach Brücke's Methode) verwendet. Der Verdampfungsrückstand des Alkoholauszugs wurde nach Entfernung des noch daran haftenden Alkohols 3 Mal mit Aether ausgeschüttelt, um Fette zu beseitigen, darauf der rückständige Syrup mit Phosphorsäure stark angesäuert und 5 Mal mit dem 5fachen Vol. Aether geschüttelt. Diese aetherischen Auszüge lieferten nach Abdestilliren des Aethers, Uebersättigen mit Barytwasser, Durchleiten von CO_2, Kochen, Filtriren und Eindampfen das Baryumlactat, welches durch vorsichtigen Zusatz von Zinksulfat in das Zinklactat übergeführt wurde.

Zur Darstellung der Milchsäure aus dem Harne habe ich nach zahlreichen Versuchen folgendes Verfahren angewendet:

Nachdem der Harn zu etwa 60—50 cbcm. auf dem Wasserbade eingeengt war (das Abdampfen unterblieb natürlich, wenn weniger Harn, als 50 cbcm. zur Disposition stand), wurde mit dem 10fachen Vol. Alkohol (95 %) gemischt und nach 12stündigem Stehen filtrirt. Nach dem Abdestilliren des Alkohols wurde der Rückstand mit Phosphorsäure angesäuert und 6 Mal mit 5fachen Vol. Aether ausgeschüttelt. Der beim Abdestilliren des Aethers zurückbleibende gelbe Syrup wird in ein wenig Wasser aufgelöst, tritt Trübung oder Niederschlag ein (Hippursäure), so wird filtrirt, dann mit reinem Bleicarbonat circa 30 Minuten auf dem Wasserbade erhitzt, und nach dem Erkalten filtrirt. Heiss darf die Flüssigkeit nicht filtrirt werden, weil die aus dem Harn noch herrührenden Verunreinigungen meist im kalten Wasser schwerer, im heissen Wasser sehr leicht lösliche Verbindungen geben. Aus der so gewonnenen Flüssigkeit entfernt man das Blei durch Schwefelwasserstoff, den SH_2 bei gelindem Erwärmen auf dem Wasserbade und concentrirt dann stark, extrahirt durch Schütteln mit Aether

die Milchsäure, destillirt den Aether von Aetherauszügen und stellt entweder durch Sättigen mit Kalkmilch, Durchleiten von CO_2, Kochen und Filtriren das Kalksalz oder durch Kochen mit reinem Zinkcarbonat und Wasser das Zinksalz der Milchsäure dar.

1. Versuch. 10. Juli 1893. Ein starkes Kaninchen von 3,040 gr. Körpergewicht, welches mit Brod und Kleie gefüttert war, wurde 10 Stunden lang mit CO vergiftet und dann durch Verbluten getödtet.

40 cbcm. Blut brauchte 14 cbcm. $^1/_{10}$ Normaloxalsäurelösung, also 100 cbcm. entspricht **0,157** gr. Na_2CO_3.

77 gr. Leber lieferten 0,863 gr. Glycogen und 0,116 gr. Zinklactat, also **1,120** % Glycogen und **0,150** % Zinklactat.

Die Menge des Zinklactates, welches aus dem während der CO-Vergiftung entleerten Harne (120 cbcm.) von schwach saurer Reaction dargestellt wurde, betrug 1,38 gr.

Dies Zinksalz schied sich in Krusten aus, welche aus gut ausgebildeten kurzen Prismen mit jederseits 2 Endflächen von verschiedener Grösse bestanden.

0,233 gr. Substanz verlor bei 110° C. 0,033 gr. Wasser.
Krystallwasser $(C_3H_5O_3)_2Zn + 2H_2O$.

Berechnet:	Gefunden:
12,90 %.	14,16 %.

0,200 gr. Substanz gab 0,0665 gr. ZnO = 0,0533 gr. Zn.

Berechnet:	Gefunden:
26,74 %.	26,65 %.

2. Versuch. 17. Juli 1893. Ein 2,75 Kilo schweres Kaninchen, welches mit Brod und Kleie gefüttert war, wurde 9 Stunden mit CO vergiftet und dann durch Verbluten getödtet.

28 cbcm. Blut verbrauchen 10 cbcm. $^1/_{10}$ Normaloxalsäurelösung, 100 cbcm. Blut entspricht **0,189** gr. Na_2CO_3.

Aus 110 gr. Leber wurden gewonnen 1,416 gr. Glycogen und 0,104 gr. Zinklactat, also **1,28** % Glycogen und **0,094** % Zinklactat.

Aus 67 cbcm. Harn, der während der Vergiftung ausgeschieden war und sauer reagirte, wurden 0,542 gr. Zink-

salz dargestellt, welches ebenso gut krystallisirte, wie im 1. Versuch.

0,263 gr. von Zinksalz verlor bei 110° C. 0,035 gr. Wasser.

Berechnet:	Gefunden:
12,9 %.	13,30 %.

0,228 gr. Substanz gab 0,076 gr. Zn O entsprechend 0,061 gr. Zn.

Berechnet:	Gefunden:
26,74 %.	26,75 %.

3. Versuch. 24. Juli 1893. Ein 2,6 Kilo schweres Kaninchen, welches mit Brod und Kleie gefüttert war, wurde 9 Stunden mit CO vergiftet und dann durch Verbluten getödtet.

40 cbcm. Blut erforderte 15 cbcm. $^1/_{10}$ Normaloxalatsäurelösung, also 100 cbcm. Blut entspricht 0,199 gr. Na_2CO_3.

Aus 89 gr. Leber wurden erhalten:

0,797 gr. Glycogen und 0,150 gr. Zinklactat, also 0,890 % Glycogen und 0,168 % Zinklactat.

Aus 65 gr. cbcm. Urin, der während der Vergiftung entleert war und stark sauer reagirte, wurden 0,973 gr. Calciumsalz dargestellt; dasselbe schied sich beim langsamen Verdunsten der wässerigen Lösung unter Zusatz von wenig Alkohol in blumenkohlähnlichen, aus feinen Nadeln bestehenden Massen ab. Von diesem Salze verloren 0,174 gr. Substanz bei 110° C. 0,042 gr. H_2O.

	Berechnet: für $(C_3H_5O_3)_2Ca + 4\,H_2O$:	Gefunden:
H_2O	24,82 %.	24,13 %.

0,127 gr. Substanz im Platintiegel verbrannt und stark geglüht, lieferten 0,033 gr. Ca O entsprechend 0,0235 gr. Ca.

Berechnet:	Gefunden:
18,32 %.	18,50 % Ca.

4. Versuch. 19. August 1893. Ein kräftiges Kaninchen von 2450 gr. Körpergewicht, welches nur mit gelben Rüben gefüttert war, wurde 10 Stunden lang mit CO vergiftet und dann durch Verbluten getödtet.

45 cbcm. erforderten 20 cbcm. $^1/_{10}$ Normaloxalsäurelösung, also enthielt 100 cbcm. Blut 0,235 gr. Na_2CO_3.

Aus 82 gr. Leber gewonnen 0,98 gr. Glycogen, also **1,19** °/₀ Glycogengehalt.

In 140 cbcm. Harn wurde nach Entfärben mit Thierkohle im Circumpolarisationsapparat untersucht, 4,2 gr. Glycose gefunden. Dieser Harn besass neutrale Reaction und gab, nach der oben beschriebenen Methode untersucht, 0,886 gr. Zinksalz, schön krystallisirt in der charakteristischen Form des milchsauren Zinks.

0,309 gr. Substanz verloren bei 110° C. 0,0398 gr. Wasser.

Berechnet für $(C_3H_5O_3)Zn + 2\,H_2O$:	Gefunden:
12,9 °/₀.	12,88 °/₀ H_2O.

0,2692 gr. Substanz gaben 0,089 gr. ZnO = 0,0714 gr. Zn.

Berechnet:	Gefunden:
26,74 °/₀.	26,52 °/₀ Zn.

5. Versuch. 21. August 1893. Ein kräftiges Kaninchen, welches nach 6 tägigem Hunger noch 2,22 Kilo wog, wurde 8 Stunden vorsichtig mit CO vergiftet, dann durch Verbluten getödtet.

35 cbcm. Blut erfordert 14 cbcm. $^1/_{10}$ Normaloxalsäurelösung, hiernach entspricht 100 cbcm. Blut **0,212** gr, Na_2CO_3.

In 55 gr. Leber wurde kein Glycogen gefunden.

Da das Thier nur 10 cbcm. Harn, der völlig frei von Zucker war, bis zum Ende des Versuchs lieferte und es unmöglich war, Milchsäure aus dieser geringen Menge Harn darzustellen, habe ich die Mischung von Blut und Natriumsulfat, die schon mit Oxalsäure titrirt war, zu diesem Zwecke verwendet. Die Mischung wurde bis zur vollständigen Gerinnung gekocht, filtrirt und der Rückstand 3 Mal mit heissem Wasser ausgewaschen. Nachdem die Flüssigkeit auf dem Wasserbade eingedampft, von ausgeschiedenem Natriumsulfat abfiltrirt, mit verdünntem Alkohol gewaschen und wieder durch Verdunsten auf dem Wasserbade von Alkohol befreit war, wurde sie mit Aether zur Extraction der Fette ausgeschüttelt. Aus dem entfetteten Rückstande wurde durch Ansäuern mit Phosphorsäure, Ausschütteln mit Aether, Sättigung des Rückstandes vom Aetherauszug mit Kalkmilch, Behandlung

mit CO_2 etc. 0,04 gr. lösliches Calciumsalz gewonnen, dessen genaue Erkennung als Calciumlactat wegen der geringen Quantität nicht ausführbar war.

Tabelle I.

Normale Alkalescenz des Blutes bei Kaninchen pro 100 cbcm. Blut			Die Alkalescenz des Blutes bei CO-Vergiftung in Gramm Na_2CO_3 pro 100 cbcm. Blut.	Bemerkungen.
in Gramm Na(OH) nach Kraus.	in Gramm Na_2CO_3 nach Zuntz.	in Gramm Na_2CO_3 nach meinen eigenen Best.		
0,179	0,397	0,349	0,157	10 Stunden mit CO vergiftet.
0,185	0,238	0,299	0,189	9 » » » »
0,221	0,572	0,347	0,199	9 » » » »
0,131	—	0,358	0,235	10 » » » »
0,119	—	—	0,212	8 Stunden mit CO vergiftet. Kaninchen im Hungerzustand.
0,167	0,402	0,338	0,196	Im Mittel.

Tabelle II.

Futter.	Glycogengehalt der Leber bei normalen Kaninchen.	Glycogengehalt der Leber bei mit CO vergifteten Kaninchen.	Harnmenge während des Versuches.	Reaction des Harns.	Zuckergehalt des Harns.	Zinklactat oder Calciumlactat im Harn.	Bemerkungen.
Brod u. Kleie	7,934 %	1,12 %	120 cbcm	schwach sauer	nicht untersucht.	1,38 gr. Zinksalz	Der Versuch hat gedauert 10 Stunden.
»	—	1,28 »	67 »	»	»	0,542 gr.	Der Versuch hat gedauert 9 Stunden.
»	—	0,89 »	65 »	stark sauer	»	0,973 gr. Calciumsalz.	Der Versuch hat gedauert 9 Stunden.
Gelbe Rüben	5,951 %	1,19 »	140 »	neutral	421 gr.	0,886 gr. Zinksalz	Der Versuch hat gedauert 10 Stunden.
Hunger . . .	—	—	—	—	—	—	
Kartoffel . .	6,77 %	0	—	—	—	—	

Nach einer Angabe von Erlenmayer[1]) zerfällt die Gährungsmilchsäure beim Erhitzen mit verdünnter Schwefel-

[1]) Zeitschrift für Chemie 1868, S. 343.

säure auf 130° C. in Aldehyd und Ameisensäure. Als Wislicenus[1]) diese Reaction mit Fleischmilchsäure anstellte, fand er, dass bei 130° C. die Reaction nur schwach, aber bei 140° C. energisch eintrat, und dass bessere Ausbeute an Aldehyd erzielt wurde, wenn die Einwirkung im zugeschmolzenen Rohre stattfand.

Zur weiteren Bestätigung, dass die als milchsaure Salze entsprechend den Krystallformen, dem Krystallwasser-, und Zink- resp. Calciumgehalt angesehenen Stoffe wirklich gewöhnliche Lactate seien, wurden 0,862 gr. vom Zinksalz in einem Glasrohre mit 1 cbcm. concentrirter Schwefelsäure und 3 cbcm. Wasser eingeschmolzen, 8 Stunden lang auf 150° C. erhitzt, das Rohr nach dem Erkalten geöffnet. Der Inhalt des Rohres roch deutlich nach Aldehyd und gab nach der Neutralisation mit Natriumcarbonat, Filtration, Destillation und Prüfung des Destillates die charakteristischen Aldehydreactionen. Die im Kolben zurückgebliebene, schwach alkalische Flüssigkeit mit verdünnter Schwefelsäure stark angesäuert und der Destillation unterworfen, gab ein Destillat, welches nach Uebersättigung mit Baryt, Einleiten von CO_2, Kochen, Filtriren und Eindampfen ein lösliches Barytsalz, welches beim Erwärmen mit Silbernitratlösung Silber reducirte und beim Erhitzen mit Quecksilberchlorid einen weissen Niederschlag gab. Es unterliegt sonach keinem Zweifel, dass die untersuchte Säure des Zinklactates beim Erhitzen mit verdünnter Schwefelsäure in Aldehyd und Ameisensäure gespalten war.

B. Versuche mit Kaninchen in sauerstoffarmer Luft.

6. Versuch. 26. Juli 1893. Ein 2400 gr. schweres Kaninchen, dessen Nahrung aus Brod und Kleie bestanden hatte, wurde um 8 Uhr 50 Minuten Vormittags unter die Glasglocke gebracht; die Kohlensäure fortwährend nach dem früher geschilderten Verfahren[2]) entfernt und an Stelle des vom

---

[1]) Annal. d. Chemie u. Pharmacie, Bd. 167, S. 333.

[2]) Vergl. unten die folgenden Bemerkungen von Hoppe-Seyler, Seite 477 u. folg.

Thier verbrauchten Sauerstoffs atm. Luft zuströmen gelassen. Um 10 Uhr 20 Minuten Vormittags wurde etwas frische Luft zugeführt, um 11 Uhr 20 Minuten wurde das Thier aus der Glocke herausgenommen, ihm der Urin aus der Blase ausgedrückt, dann sogleich das Thier unter die Glasglocke gebracht. Der Harn zeigte schon neutrale Reaction und reducirte alkalische Kupferlösung. Um 1 Uhr 30 Minuten, ebenso um 2 Uhr 50 Minuten und um 4 Uhr 25 Minuten wurde der Harn ausgedrückt und um 5 Uhr 30 Minuten der Versuch abgebrochen und das Kaninchen durch Verblutung getödtet.

50 cbcm. Blut verbrauchten zur Neutralisation 18 cbcm. $^1/_{10}$ Normaloxalsäurelösung, es enthielten also 100 cbcm. Blut **0,190** gr. Na_2CO_3.

Aus der Leber von 93 gr. Gewicht wurden 2,346 gr. Glycogen und 0,108 gr. Zinklactat gewonnen.

Glycogengehalt . .	**2,524** %.
Zinklactat	**0,116** »

Aus dem Harne (115 cbcm.), der während des Versuches aufgefangen war, wurden neben 3,46 gr. Zucker 0,909 gr. Calciumlactat erhalten. Der Harn reagirte neutral und enthielt Eiweiss.

0,146 gr. des kalt getrockneten Calciumlactates verloren bei 110° C 0,036 gr. Wasser.

0,110 gr. trockenen Lactats lieferten geglüht 0,0279 Ca O = 0,0119 gr. Ca.

	Berechnet für $(C_3H_5O_3)$ 2 Ca + 4 H_2O:	Gefunden:
H_2O	24,82 %.	24.65 %.
Ca	18,32 »	18,09 »

7. Versuch. 31. Juli 1893. Ein starkes Kaninchen von 2,870 Kilo Körpergewicht, mit Brod und Kleie gefüttert, wurde um 8 Uhr 30 Minuten Vormittags in die Glocke gebracht und wie im Versuche 6 behandelt, um 10 Uhr 25 Minuten wenig frische Luft eingebracht. Der um 11 Uhr 50 Minuten aus der Blase ausgedrückte Harn reagirte sauer und reducirte stark alkalische Kupferlösung. Um 1 Uhr 50 Minuten, um 3 Uhr, um 4 Uhr 40 Minuten und um 6 Uhr wurde etwas frische Luft zugelassen und der Harn ausgepresst. Um 6 Uhr 30 Minuten wurde das Thier durch Verbluten getödtet.

42 cbcm. Blut verbrauchten 13 cbcm. $^1/_{10}$ Normaloxalsäurelösung, 100 cbcm. Blut enthielten sonach 0,168 gr. Na_2CO_3.

Aus der Leber von 110 gr. Gewicht wurden 3,120 gr. Glycogen und 0,121 gr. Zinklactat erhalten, die Leber gab sonach

2,83 % Glycogen,
0,11 » Zinklactat.

Aus 65 cbcm. Harn, der stark sauer reagirte und 0,845 gr. Zucker enthielt, wurden 1,270 gr. Calciumsalz dargestellt.

Von diesem Calciumsalz verloren 0,185 gr. bei 115° C. 0,045 gr. Wasser.

Berechnet für $(C_3H_5O_3)_2Ca + 4 H_2O$:	Gefunden:
24,82 %.	24,32 % H_2O.

0,140 gr. wasserfreies Salz gab beim Glühen im Platintiegel 0,0355 gr. CaO oder 0,0253 gr. Ca.

Berechnet:	Gefunden:
18,32 %.	18,07 %.

8. Versuch. 3. August 1893. Ein mit Brod und Kleie gefüttertes Kaninchen von 2,020 Kilo Körpergewicht wurde 8 Uhr 15 Minuten Vormittags in die Glocke gebracht und im Uebrigen wie in den früheren Versuchen behandelt. Der um 10 Uhr 20 Minuten aus der Blase ausgepresste Harn reagirte noch schwach alkalisch, gab schöne Trommer'sche Reaction. Um 12 Uhr wurde wieder frische Luft zugelassen und der Urin, der schon saure Reaction zeigte, aus der Blase ausgepresst. Um 2 Uhr Nachmittags, 3 Uhr 30 Minuten, 5 Uhr 30 Minuten frische Luft zugelassen, und der Urin jedesmal ausgedrückt. Um 7 Uhr wurde das Thier durch Verbluten getödtet.

35 cbcm. Blut verbrauchten zur Neutralisation 14 cbcm. $^1/_{10}$ Normaloxalsäurelösung, 100 cbcm. Blut enthielten sonach 0,212 gr. Na_2CO_3.

Aus der Leber von 46 gr. Gewicht wurden 0,67 gr. Glycogen (1,45 % Glycogen) erhalten.

Aus 58 cbcm. Harn, welcher sauer reagirte und 1,276 gr. Zucker enthielt, wurden 0,793 gr. Calciumlactat dargestellt.

9. Versuch. 11. August 1893. Ein mit gelben Rüben gefüttertes Kaninchen von 2700 gr. Körpergewicht wurde um 9 Uhr 50 Minuten Vormittags in die Glocke gebracht, um 11 Uhr etwas frische Luft eingeführt. Der um 12 Uhr 25 Minuten ausgedrückte Urin reagirte neutral, nicht mehr alka-

lisch. Um 2 Uhr 30 Minuten, 4 Uhr und 5 Uhr wurde etwas frische Luft eingeführt und der Urin ausgepresst. Die letzte Urinportion, die um 5 Uhr ausgepresst wurde, reagirte schwach sauer.

Um 6 Uhr 30 Minuten wurde das Thier durch Verbluten getödtet.

45 cbcm. Blut verbrauchten zur Neutralisation 22 cbcm. $^1/_{10}$ Normal-oxalsäurelösung, 100 cbcm. Blut enthielten also 0,259 gr. Na_2CO_3.

Aus der Leber von 70 gr. Gewicht wurden 0,842 gr. Glycogen, 1,20 %, erhalten.

105 cbcm. gesammelter Urin des Thieres reagirte neutral und enthielt 2,625 gr. Zucker. Aus ihm wurden 0,762 gr. Zinksalz dargestellt.

0,381 gr. von diesem Salz verloren bei 0,11° C. 0,051 gr. H_2O.

Berechnet für $(C_3H_5O_3)_2Zn + 2H_2O$:	Gefunden:
12,9 %.	13,38 % H_2O.

0,330 gr. wasserfreies Salz gaben 0,113 gr. ZnO oder 0,090 gr. Zn.

	Berechnet:	Gefunden:
Zn	26,74 %.	27,27 %.

10. Versuch. 20. Februar 1894. Ein starkes Kaninchen, welches mit Kartoffeln gefüttert war, wurde 9 Stunden lang auf gleiche Weise behandelt, wie in sonstigen Versuchen.

Aus 82 cbcm. Harn, der sauer reagirte und 1,92 gr. Zucker enthielt, wurden 1,42 gr. milchsaures Zink dargestellt.

Tabelle III.

Futter.	Alkalescenz des Kaninchenblutes bei O-Mangel i. g. Na_2CO_3 pr. 100 cbcm. Blut.	Glycogengehalt der Leber bei O-Mangel in %.	Harnmenge in cbcm.	Reaction des Harns.	Gehalt an Zink- resp. Calcium-lactat des Harns.	Zuckergehalt des Harns in gr.	Bemerkungen.
Brod u. Kleie	0,190	2,524	115	neutral	0,909 gr. Ca-Lactat	3,46	Der Versuch hat gedauert 8 Stund. 40 M.
» » »	0,163	2,830	65	stark sauer	1,270 » »	0,845	10 Stunden.
» » »	0,212	1,450	58	sauer	0,793 » »	1,276	10 »
Gelbe Rüben	0,259	1,207	105	neutral	0,762 » Zn-Lactat	2,625	8 » 40 Min.
Kartoffel . .	nicht untersucht		82	sauer	1,426 » »	1,920	9 »

III. Versuche an Kaninchen über den Gehalt an Glycogen in Leber und Muskeln, Zucker und Zinklactat aus Blut und Harn bei Vergiftung mit CO oder Amylnitrit und bei Einwirkung von sauerstoffarmer Luft.

A. CO-Vergiftung.

1. Versuch. 6. December 1893. Ein mit Kraut gefüttertes Kaninchen wurde 7 Stunden lang mit CO vergiftet. Nach Tödtung des Thieres durch Verbluten wurden die beiden Schenkel enthäutet, die Muskeln möglichst schnell von dem Knochen abpräparirt, gewogen und in siedendes Wasser gebracht. Weiterhin nach der Methode von Külz wurde das Glycogen der Muskeln der einen Seite und die Milchsäure nach dem früher von mir geschilderten Verfahren aus den Muskeln der anderen Seite bestimmt.

Es wurden erhalten:

0,3695 gr. wasserfreies Zinklactat aus 72 gr. Muskeln oder **0,5132** %, 0,1620 gr. Glycogen aus 75 gr. Muskeln oder **0,216** %.

Blut und Harn des Thieres wurden auf Zucker und Milchsäure untersucht und erhalten:

Aus 35 cbcm. Blut 0,099 gr. wasserfreies Zinklactat oder **0,282** % und 0,109 gr. Zucker oder **0,286** %.

Aus 37 cbcm. Harn: 0,989 gr. lufttrockenes Zinklactat oder **2,86** % und 1,350 gr. Zucker oder **3,65** %.

2. Versuch. 14. December 1893. Ein starkes Kaninchen, welches mit Kraut gefüttert war, wurde 7 Stunden lang mit CO vergiftet, dann durch Verbluten getödtet. Es wurden dann gewonnen:

Aus 87 gr. Muskeln 0,400 wasserfreies Zinklactat oder **0,460** %.

Aus 86 gr. Muskeln 0,355 gr. Glycogen oder **0,412** %.

Aus 64 cbcm. Blut 0,250 gr. Zucker oder **0,340** % und 0,210 gr. wasserfreies Zinklactat **0,329** %.

Aus 76 cbcm. Harn wurden erhalten: **3** gr. Zucker oder **3,94** % und 0,600 gr. lufttrockenes Zinklactat oder **0,935** %.

B. Versuche mit Amylnitrit.

Die Thatsache, dass bei der Amylnitritvergiftung Milchsäure und Zucker in reichlicher Menge[1]) im Harn

[1]) Zeitschrift für physiol. Chemie, Bd. XV, S. 554.

auftreten, berechtigt schon zur Annahme, dass hier auch der abnorme Glycogenverbrauch und eine Alkalescenzabnahme des Blutes stattfinde. In der That beobachtete schon Kinokoff[1]), dass bei der Amyilnitritvergiftung das Glycogen der Leber verschwunden war, und kam zu folgenden Schlüssen:

1. Amylnitrit und Nitrobenzin bewirken gleich dem Arsenik ein Verschwinden des Leberglycogens.
2. Die Einführung von Traubenzucker bei gleichzeitiger Einwirkung von Amylnitrit bewirkt keine Vermehrung des Leberglycogens.
3. Vermuthlich steht die durch Amylnitrit bewirkte Zuckerausscheidung im Harn in Beziehung zu den eben mitgetheilten Thatsachen.

Wie aus folgenden Versuchen ersichtlich ist, habe ich auch insofern diese Angaben bestätigen können, als der Gehalt an Glycogen der Leber erheblich abnahm, wenn Thiere gewisse Zeit lang der Wirkung des Amylnitrits ausgesetzt waren. Jedoch möchte ich darauf aufmerksam machen, dass es mir niemals gelungen war, selbst bei 8stündiger Vergiftung ein vollständiges Verschwinden des Leberglycogens bei gut ernährten Thieren herbeizuführen.

2 oder 3 Stunden nach der Vergiftung nahm der alkalische Harn stets saure Reaction an, wie in den oben mitgetheilten Versuchen. Die Alkalescenz des Blutes war sehr stark herabgesetzt und zwar viel stärker, als es bei CO-Vergiftung und bei der Einwirkung von sauerstoffarmer Luft der Fall war, was wohl mit der reichlichen Milchsäureausscheidung im Harn übereinstimmt.

3. Versuch. 5. Januar 1894. Ein 2970 gr. schweres Kaninchen, welches mit Kraut gefüttert war, wurde durch Inhalation von Amylnitrit vergiftet. Nach 6stündiger Vergiftung wurde es durch Verbluten getödtet. Das Blut war dunkelbraun.

50 cbcm. Blut wurden durch 13 cbcm. $^1/_{10}$ Normaloxalsäurelösung neutralisirt, das Blut enthielt sonach **0,069** gr. Na_2CO_3 in 100 cbcm. Blut.

---

[1]) Maly's Jahresbericht der Thierchemie 1876, S. 198.

Die Muskeln, welche gleich nach dem Tode des Thieres von beiden Schenkeln abpräparirt waren, wurden zur Bestimmung des Glycogens und der Milchsäure benutzt.

108 gr. Muskeln gaben 0,433 gr. wasserfreies Zinklactat, also **0,400** %.

98 gr. Muskeln gaben 0.106 gr. Glycogen oder **0,108** %.

Aus der Leber wurde das Glycogen nach der Methode von Külz dargestellt.

Aus 99 gr. Leber wurde 0,518 gr. Glycogen oder **0,523** % gewonnen.

Der Harn, welcher während der Vergiftung aufgefangen war, reagirte sauer und lieferte aus 57 cbcm. 0,62 gr. Zucker oder **1,09** % und 1,056 gr. lufttrockenes Zinklactat, also **1,852** %.

0,298 gr. Substanz bei 115° C. getrocknet verloren 0,039 gr. H_2O = **13,09** %; 0,259 gr. trockenes Zinklactat gaben 0,085 gr. ZnO = 0,0682 gr. Zn oder **26,33** %.

4. Versuch. 11. Januar 1894. Ein starkes Kaninchen von 1980 gr. Körpergewicht, welches mit Kartoffeln gefüttert war, wurde durch Inhalation von Amylnitrit vergiftet. Nach 8stündiger Vergiftung ging das Thier unter starker Dispnoe zu Grunde. Das aus dem Herzen gewonnene Blut war sehr dunkel gefärbt und schwer gerinnbar.

12 cbcm. Blut wurden durch 2 cbcm. $^1/_{10}$ Normaloxalsäurelösung neutralisirt, entsprechend **0,09** gr. Na_2CO_3 in 100 cbcm. Blut.

Aus 80 gr. Leber wurden 1,64 gr. oder **2,050** % Glycogen nach der Külz'schen Methode dargestellt.

Aus 66 gr. Muskeln des einen Schenkels wurden 0,378 gr. wasserfreies Zinklactat = **0,578** % dargestellt.

Aus 61 gr. Muskeln des anderen Schenkels wurden 0,140 gr. Glycogen = **0,230** % erhalten.

Der während der Versuchszeit entleerte Harn des Kaninchens reagirte sauer und es wurden erhalten:

Aus 75 cbcm. Harn 3,5 gr. Zucker, also **4,67** %, und 1,47 gr. lufttrockenes Zinklactat, also **1,97** %.

Nach S. Meyer und J. Friedrich[1]) scheint bei Amylnitritvergiftung die im Organismus stattfindende Oxydations-

---

[1]) Archiv f. experiment. Path. und Pharmak., Bd. V, S. 81.

störung keine erhebliche zu sein. Auf Grund ihrer Versuche äussern sie sich folgendermassen:

«Würde das Amylnitrit nur als Sauerstoffräuber seine eigenthümliche Wirkungen entfalten, dann müssten wir auch am Circulationsapparate die bekannten dyspnoitischen Erscheinungen wahrnehmen. Als solche sind bekannt Pulsverlangsamung durch centrale Vagusreizung und Drucksteigerung durch Erregung des cerebralen Centrums für die Vasomotoren. Nun aber associren sich, wie wir gesehen haben, der durch das Mittel gesetzten, an dyspnoinischen Erscheinungen erinnernden Beschleunigung und Vertiefung der Athembewegungen, sowie den klonischen Krämpfen nicht sowohl Verminderung der Herzfrequenz und Steigerung des arteriellen Drucks, sondern das Gegentheil — Beschleunigung der Herzschläge und Erniedrigung des arteriellen Drucks».

Diese Beobachtungen liefern keinen Beweis dafür, dass das Amylnitrit keinen Einfluss auf die Oxydation ausübt, und vielmehr man könnte hieraus den Schluss ziehen, dass in Folge der Amylnitritvergiftung eine erhebliche Oxydationsstörung entsteht, weil allein durch die Erniedrigung des arteriellen Drucks schon die Oxydation im Organismus sehr stark verhindert sein kann. Man darf auch nicht vergessen, dass bei Amylnitritvergiftung stets Oxyhämoglobin im Methämoglobin[1]) umgewandelt wird und in Folge dessen das Blut seine Fähigkeit einbüsst, Sauerstoff locker zu binden und leicht abzugeben. Wenn der arterielle Druck unter die Norm[2]) sinkt und wenn das Blut nicht mehr befähigt ist, Sauerstoff leicht an die Gewebe abzugeben, wie sollte da keine Verminderung der Oxydation stattfinden? Es lässt sich daher nicht leugnen, dass hier auch die reichliche Ausscheidung der Milchsäure im Harne und eine starke Alkalescenzabnahme des Blutes wohl auf den Sauerstoffmangel zu beziehen ist.

---

[1]) Giacosa, Zeitschrift für physiol. Chemie, Bd. III, S. 42.
[2]) Filehne, Archiv f. gesammt. Physiol., Bd. 9, S. 470.

C. Versuche mit sauerstoffarmer Luft.

5. Versuch. 9. März 1894. Ein Kaninchen von 2,100 Kilo Körpergewicht, dessen Nahrung aus Rüben und Brod bestanden hatte, wurde um 9 Uhr 20 Minuten Vormittags in die Glocke gebracht und wie in vorher geschilderten Versuchen behandelt. Der um 11 Uhr 40 Minuten Vormittags aufgefangene Harn reagirte noch schwach alkalisch und enthielt keinen Zucker. Der Harn, der um 1 Uhr aus der Blase ausgedrückt wurde, zeigte schon schwach sauere Reaction und reducirte stark alkalische Kupferlösung. Um 2 Uhr 56 Minuten, 4 Uhr 20 Minuten, 6 Uhr wurde das Thier aus der Glocke herausgenommen und der Harn aus der Blase ausgepresst. Nachdem der letzte Harn aufgefangen war, wurde das Thier durch Verbluten getödtet.

Aus 92 gr. Muskeln 0,363 gr. Glykogen oder **0,394** %.

Aus 93 gr. Muskeln 0,602 gr. wasserfreies Zinklactat oder **0,647** %.

Aus 61 cbcm. Blut 0,24 gr. Zucker oder **0,393** % und 0,221 gr. wasserfreies Zinklactat oder **0,362** %.

Aus 66 cbcm. Harn wurden erhalten: 2,54 gr. Zucker oder **3,85** % und 0,892 gr. lufttrockenes Zinklactat oder **1,35** %.

6. Versuch. 18. März 1894. Ein 2,150 Kgr. schweres Kaninchen, das nur mit Rüben gefüttert war, wurde um 9 Uhr Vormittags in die Glocke gebracht. Der um 11 Uhr 30 Minuten Vormittags ausgedrückte Harn reagirte noch alkalisch und gab schwache Trommer'sche Reaction. Um 1 Uhr, 2 Uhr 30 Minuten, 4 Uhr 10 Minuten, 6 Uhr wurde das Thier aus der Glocke herausgenommen und der Harn aus der Blase ausgedrückt. Von 2 Uhr 30 Minuten an nahm der Harn sauere Reaction an und reducirte stark alkalische Kupferlösung. Nach dem Auspressen des letzten Harns wurde das Thier durch Verbluten getödtet.

Aus 98 gr. Muskeln 0,4995 gr. Glycogen oder **0,509** %.

Aus 97 gr. Muskeln 0,581 gr. wasserfreies Zinklactat oder **0,598** %.

Die Analyse des Blutes ist misslungen.

Aus 150 cbcm. Harn wurden erhalten: 5 gr. Zucker oder **3,33** % und 1,766 gr. lufttrockenes Zinklactat oder **1,17** %.

Tabelle IV.

Futter.	Glycogengehalt der Muskeln in %.	H_2O-freies Zn-Lactat aus Muskeln in %.	Harnmenge in cbcm.	Reaction des Harns.	Zucker aus Harn in gr.	Lufttrockenes Zn-Lactat aus Harn in gr.	Dauer der Versuchszeit.	Bemerkungen.
Kraut	0,216	0,5132	37	sauer	1,350	0,989	7 Stund.	Mit CO.
»	0,412	0,4600	77	»	3,000	0,600	7 »	
»	0,108	0,4000	57	»	0,62	1,056	6 »	Mit Amylnitrit.
Kartoffeln . . .	0,230	0,5730	75	»	3,50	1,470	8 »	
Rüben u. Brod	0,394	0,647	66	»	2,54	0,892	8 » 40 M.	Mit sauerstoff-armer Luft.
Rüben	0,509	0,598	150	»	5,00	1,766	9 »	
Kartoffeln . . .	0.551	0,689	—	—	—	—	—	Normales Kaninchen.
Rüben	0,621	0,692	—	—	—	—	—	

Wenn man einen Blick auf die Ergebnisse wirft, so fällt zunächst auf, dass bei allen Versuchen der alkalische Kaninchen-harn saure oder neutrale Reaction angenommen hat.

Dass bei gewissen Versuchen diese Reactionsveränderung des Kaninchenharns eingetreten ist, ohne dass das Thier vorher gehungert hatte oder mit saurer Nahrung gefüttert war, ist schon von einigen Autoren angegeben worden. So beobachtete Uhle[1]) nach der Jnjection von 1,5 gr. verschiedener Zuckerarten in die Jugularvenen von Kaninchen regelmässig eine saure Reaction des Harns, die auch dann eintrat, wenn ein Aequivalent Traubenzucker mit dem zwei- bis dreifachen Aequivalent kohlensaurem Natron zur Injection verwendet wurde. Auch von Becker[2]) sah bei seinen Injectionsversuchen den Harn constant neutral und im Laufe der zweiten Stunde sauer werden, in einem Falle, wo der Harn stündlich untersucht wurde, erst in der achten Stunde wieder einen Uebergang in die neutrale Reaction.

---

[1]) Dissertation, Leipzig 1852, da die Original-Abhandlung mir nicht zugänglich war, so habe ich dies aus der Dissertation von Senf, Dorpat 1869, S. 24, entnommen.

[2]) Zeitschrift f. wissenschaftliche Zoologie, 1854, Bd. 5, S. 123, entnommen der Dissertation von Senf, Dorpat 1869, S. 24.

In seiner Abhandlung über experimentelle Untersuchungen über den Einfluss von Respirationsstörung auf den Stoffwechsel äusserte Senator[1]) sich folgendermassen:

«Von Interesse ist die veränderte Reaction des Harnes bei Kaninchen. Während er in der Norm und bei mässiger Dyspnoe alkalisch oder seltener schwach sauer reagirte, war er bei bedeutender Athemnoth, in letztem Stadium, constant stark sauer. Schon Cl. Bernard erwähnte, ohne sie zu erklären, die Thatsache, dass nach Einspritzung von Oel in die Lungen von Kaninchen der vorher alkalische Harn sauer wird. Dasselbe fand, wie unsere Versuche zeigen, auch bei andersartigen Respirationsstörungen statt und erklärt sich einfach, dass die Thiere bei bedeutender Athemnoth nicht frassen, und daher die Salze der Nahrung, welche die Alkalescenz des Harns bedingen, fehlen oder vermindert sind.»

Im Gegensatze zu diesem Befunde sah Köhler[2]) an den zu seinen Versuchen benutzten ca. 2 Dutzend Kaninchen, wenn auch die Dispnoe durch sehr fest angelegte Trachealigatur den höchsten Grad erreicht hatte, stets eine stark alkalische und niemals eine saure Reaction des Harns und glaubte zu dem Schlusse berechtigt zu sein, dass diese Veränderung der Reaction nicht von der Dyspnoe, sondern von in der von Senator befolgten und von der seinigen verschiedenen Methode, das Respirationshinderniss hervorzubringen, begründeten Gelegenheitsursachen abhängig war.

Wenn auch die Methoden, die Senator zur Herbeiführung der Dyspnoe verwendet hatte, Einschnürung des ganzen Rumpfes mit einer breiten elastischen Binde, Oeleinspritzung in die Luftröhre etc., durchaus nicht vorwurfsfrei waren, so unterliegt es doch keinem Zweifel, dass die von ihm angegebene Reactionsveränderung des Kaninchenharns nicht einfach auf den Hunger zurückzuführen, sondern vielmehr der Wirkung der dabei entstandenen Milchsäure zuzuschreiben ist, denn er beobachtete dies nur bei hochgradiger Dyspnoe. Was die Angaben von Köhler anbetrifft, so möchte ich

---

[1]) Virchow's Archiv, Bd. XLII, 1868, S. 1—38.

[2]) Archiv f. experiment. Pathol. und Pharmacie, Bd. VIII, S. 38.

darauf hindeuten, dass die von ihm herbeigeführte Dyspnoe nicht stark genug war, um die Milchsäure vor Oxydation zu schützen. Hieraus lässt sich wohl erklären, warum er niemals das Sauerwerden des alkalischen Kaninchenharns hat beobachten können.

Um jeden Zweifel zu beseitigen, habe ich folgende Versuche angestellt.

1. Versuch. 20. October 1893. Ein mit Kartoffeln gefüttertes Kaninchen, dessen Harn stark alkalisch reagirte, wurde um 11 Uhr Vormittags mit CO vergiftet. Der Harn, der 2 Uhr Nachmittags aus der Blase ausgepresst wurde, gab schon saure Reaction also nach 3stündiger Vergiftung.

Zur Controle habe ich ein Kaninchen, welches mit gleichem Futter ernährt war, wie bei dem Vergifteten, von 11 Uhr Vormittags ab solang hungern lassen, bis der alkalische Harn saure Reaction annahm. Der Harn reagirte erst sauer am 21. October 4 Uhr Nachmittags, also nach 29stündigem Hunger.

2. Versuch. 23. October 1883. Ein mit Kartoffeln und Kleie gefüttertes Kaninchen, dessen Harn stark alkalisch reagirte, wurde 9 Uhr Vormittags mit CO vergiftet. Der Harn, der 11 Uhr Vormittags aus der Blase ausgedrückt wurde, reagirte schon schwach sauer.

Der Harn von einem mit Kartoffeln und Kleie gefütterten Kaninchen, dem am 23. October 1893 von 9 Uhr Vormittags ab Nahrung entzogen wurde, nahm erst am 24. October 3 Uhr Nachm. eine saure Reaction an, also nach 30stündigem Hunger.

3. Versuch. 26. October 1893. Ein Kaninchen, welches nur mit gelben Rüben gefüttert war, wurde 8 Uhr Vormittags mit CO vergiftet. Der Harn, der um 11 Uhr Vormittags ausgedrückt wurde, reagirte schon sauer, wenn auch sehr schwach.

Der Harn von einem mit gelben Rüben gefütterten Kaninchen, dem am selbigen Tage von 8 Uhr Vormittags ab Nahrung entzogen wurde, reagirte erst sauer am 27. October 3 Uhr Nachmittags, also nach 31stündigem Hunger[1]).

[1]) Bei den mit CO vergifteten Kaninchen wurde der Harn alle Stunden aus der Blase ausgepresst und dessen Reaction geprüft; bei Control-Kaninchen geschah dies nur bei Tage und der Nachtharn wurde stets Morgens früh untersucht.

Die Versuche zeigen übereinstimmend, dass bei CO-Vergiftung der alkalische Kaninchenharn schon im Verlauf von 2 oder 3 Stunden eine saure Reaction annahm, während bei nicht vergifteten Kaninchen diese Reactionsveränderung erst nach 29—31 stündigem Hunger eintrat. Hierdurch ist mit Bestimmtheit erwiesen, dass das in den oben geschilderten Versuchen oft beobachtete Sauerwerden des alkalischen Kaninchenharns nicht durch den Hunger bedingt ist.

Ausser der Reactionsveränderung des Harns ist auch die Alkalescenzabnahme des Blutes zu beachten. Obwohl für die Verminderung der Alkalescenz im Blute verschiedene Gründe sich anführen lassen, ist doch als ein wichtiges Moment die Säuerung des Blutes hervorzuheben. Durch Versuche von Spiro[1]) wissen wir, dass bei angestrengter Muskelthätigkeit eine Production von Milchsäure im Organismus stattfindet. Wir wissen ferner, dass bei Strychninvergiftung und bei Tetanus[2]) sowohl der Kohlensäuregehalt als auch die Alkalescenz des Blutes erheblich herabgesetzt werden. Aus diesen Thatsachen ergibt sich schon, dass für die Abnahme des Gehaltes an Alkalien und Kohlensäure des Blutes bei Tetanus und bei Strychninvergiftung die neugebildete Milchsäure von grosser Bedeutung ist.

Es liegen übrigens auch Beobachtungen vor, welche dafür sprechen, dass durch Anhäufung der Milchsäure im Blute die Alkalescenz desselben stark herabgesetzt wird. So hat Geppert[3]) bei der Blausäurevergiftung eine starke Verminderung des Kohlensäuregehaltes im Blut gefunden. Dass bei der Blausäurevergiftung die Milchsäure im Blut bedeutend vermehrt ist, und dass also die verminderte Alkalescenz des Blutes durch das in Folge des O-Mangels erfolgte Auftreten der Milchsäure bedingt ist, und nicht auf einer specifischen Wirkung der Blausäure beruht, ist durch eine von Zillessen[4]) ausgeführte eingehende Untersuchung zur Genüge nachgewiesen.

---

[1]) Zeitschrift f. physiol. Chemie, Bd. 1, S. 111.

[2]) Minkowski, Archiv f. experiment. Pathol. u. Pharm., Bd. XIX, S. 233. Zuntz, Arch. f. gesammt. Physiol., Bd. 42, S. 233.

[3]) Ueber das Wesen der Blausäurevergiftung, 1889.

[4]) Zeitschrift f. physiol. Chemie, Bd. XV, S. 398.

Es kann nun kein Zweifel mehr darüber obwalten, dass die Alkalescenzabnahme des Blutes, die bei CO-, Amylnitritvergiftung und bei der Wirkung der sauerstoffarmen Luft constant beobachtet wurde, auch als Folge der Bildung von Milchsäure zu betrachten ist.

Bei Hunden scheint das Sinken der Alkalescenz des Blutes, welches durch Säureproduction verursacht wird, kein erhebliches zu sein, denn der Organismus eines Carnivoren besitzt die Fähigkeit[1]), bei Säurezufuhr die zur Neutralisation erforderlichen Alkalien durch vermehrte Bildung von Ammoniak vor dem Verluste bis zu gewissem Grade zu schützen.

Aus Versuchen von Cohnstein[2]) geht hervor, dass bei Fleischfressern eine starke Alkalescenzabnahme des Blutes erst dann durch Steigerung der Muskelthätigkeit hervorgebracht wird, wenn dem Thiere stickstoffreiche Nahrung entzogen wird. Gelegentlich der Untersuchungen über die Einwirkung von Sauerstoffmangel auf den thierischen Organismus habe ich die Beobachtung[3]) gemacht, dass beim Sauerstoffmangel der Ammoniakgehalt des Hundeharns gesteigert war. Es ist daher höchst wahrscheinlich, dass bei Hunden der Sauerstoffmangel keinen so grossen Einfluss auf die Alkalescenz des Blutes ausübt, wie bei Kaninchen.

Als eins der wichtigsten Ergebnisse haben wir noch die Abnahme des Glycogen zu erwähnen. Wie es aus oben geschilderten Versuchen ersichtlich ist, erfolgte unter allen Umständen, wo Milchsäure und Glycose im Harn auftraten, stets eine Abnahme des Glycogengehaltes in der Leber und in Muskeln. Dass die Bildung von Milchsäure im Organismus constant vom Verbrauch des Glycogens begleitet wird, ist durch zahlreiche Versuche, welche verschiedene Autoren zu verschiedenen Zwecke angestellt haben, höchst wahrscheinlich gemacht worden. So hat Külz[4]) beobachtet, dass durch

---

[1]) Walter a. a. o.

[2]) Virchow's Archiv, Bd. 130, S. 332—360.

[3]) Zeitschrift f. physiol. Chemie, Bd. XV, S. 345—347. Dort sind irrthümlicher Weise abgedruckt: 1,54 °/₀ und 1,70 °/₀ anstatt 1,54° °/₀ und 170° °/₀ und 1,04 °/₀ und 2,4 °/₀ anstatt 1,04° °/₀ und 2,4° °/₀.

[4]) Zu d. 50jährig. Doctor-Jubelfeier d. Herrn C. Ludwig, 1890, S, 109, und Pflüger's Archiv, Bd. 24, S. 41.

angestrengte Körperbewegung die Hundeleber glycogenfrei gemacht wird. Colasanti und Moscatelli[1]) ist es gelungen, Fleischmilchsäure im Harne von Soldaten nach anstrengenden Märschen nachzuweisen. Die Thatsache, dass bei Strychninvergiftung Milchsäure im Harn ausgeschieden wird und gleichzeitig ein erhebliches Absinken der Alkalescenz im Blute stattfindet, lassen sich wohl mit den Beobachtungen von Demant[2]), dass die Strychninvergiftung zu raschem Verschwinden des Muskeln- und Leberglycogens führt, in Einklang bringen. Es unterliegt nun keinem Zweifel, dass das Glycogen als die Muttersubstanz der Milchsäure, wenigstens in unseren Fällen, zu betrachten ist.

Wenn die milchsäurebildende Substanz in Muskeln durch irgend eine Stoffwechselstörung vermindert ist und die entstandene Milchsäure durch das circulirende Blut fortgespült wird, so ist es wohl begreiflich, dass in diesem Falle der Milchsäuregehalt der Muskeln nachher unter die Norm absinken muss. So hat Ranke[3]) weniger Säure im tetanisirten Muskel gefunden, als im geruhten. Dieser Befund ist durch Astaschewsky[4]) bestätigt worden, welcher den Nachweis führte, dass die Alkoholextractmenge der arbeitenden Muskeln bei fortdauernder Blutcirculation bedeutend geringer ist, als in den ruhenden, und dass die bei Tetanus verminderte Säure Milchsäure ist. In oben angeführten Versuchen habe ich auch stets eine grössere oder geringere Abnahme des Milchsäuregehaltes in Muskeln beobachtet, wenn auch nicht so bedeutend wie Heffter[5]) dies bei den mit CO vergifteten Katzen gesehen hat.

IV. Ueber den Einfluss der CO-Vergiftung auf die Harnstoffbildung.

Am Schlusse seiner Abhandlung über die Folgen der Unterbrechung der Blutzufuhr oder Exstirpation der Leber[6])

---

1) Moleschott, Untersuchungen z. Naturlehre etc., Bd. 14, Heft 1, S. 2.
2) Zeitschrift für physiol. Chemie, Bd. 10, S. 44.
3) J. Ranke, Tetanus, S. 150, 1865, Leipzig.
4) Zeitschrift f. physiol. Chemie, Bd. IV, S. 397.
5) Archiv f experim. Pathol. und Pharmacol., Bd. XXX, S. 254.
6) Archiv f. experim. Pathol. und Pharmacol., Bd. XXXI, S. 221.

spricht Minkowski die Vermuthung aus, dass auch bei einfachem Sauerstoffmangel die Leberfunctionen gestört würden und hierdurch die Ausscheidung von Milchsäure zu Stande käme. Ich werde am Ende dieser Mittheilungen diese Frage näher besprechen; die Resultate der folgenden Versuche sind mit dieser Hypothese nicht im Einklang.

Wenn wirklich die Leber bei Sauerstoffmangel ihre synthetische Fähigkeit einbüsste, den Harnstoff zu bilden oder die Harnsäure aus Milchsäure und Ammoniak zu erzeugen, und in Folge dessen die Milchsäure als solche im Harne aufträte, so müsste man erwarten, dass dann auch die Harnstoff- resp. Harnsäureausscheidung unter die Norm herabgesetzt sein müsste. Die zahlreichen Untersuchungen[1]), welche hinsichtlich der Einwirkung von Sauerstoffmangel auf den Stoffwechsel bisher von verschiedenen Autoren ausgeführt worden sind, zeigen aber übereinstimmend das Gegentheil: Die Steigerung der Harnstoff- resp. Harnsäureausscheidung.

Um die Harnstoffausscheidung im normalen Zustande mit derjenigen bei der CO-Vergiftung zu vergleichen, wurde Kaninchen eine bestimmte Quantität Milch um bestimmte Zeit durch die Schlundsonde in den Magen gebracht und für 24 Stunden die Harnquantität gesammelt und zwar erst an 1 oder 2 Tagen ohne CO-Vergiftung, dann einen Tag mit derselben. Die Vergiftung wurde erst 2 bis 3 Stunden nach der Milchfütterung ausgeführt, da gewöhnlich durch die auftretende Diarrhöe das Versuchsresultat getrübt wird, wenn man gleich nach der Milchinjection in den Magen des Thieres die CO-Vergiftung einleitet.

Der Harnstoff wurde in den gesammelten Harnportionen nach der Liebig'schen Methode mit Quecksilbernitrat bestimmt.

1. Versuch. 20. November 1893. Ein starkes Kaninchen, welches 3 Tage lang täglich mit 160 cbcm. Milch ernährt war, wurde 6 Stunden mit CO vergiftet.

---

[1]) Jeanneret, Archiv f. experiment. Pathol. u. Pharmakol., Bd. III, S. 159—161. A. Fränkel, Virchow's Archiv, Bd. LXVIII, S. 1. Fleischer und Petzoldt, Virchow's Archiv, Bd. LXXXVIII, S. 210.

Tabelle V.

Harnmenge.	Reaction.	Spec. Gew.	Harnstoff.	Bemerkungen.
160 cbcm.	sauer	1,019	3,04 gr.	Nicht vergiftet in 24 Stunden.
90 »	»	1,020	1,99 »	Während der Vergiftung.
85 »	»	1,017	1,50 »	Nach der Vergiftung.
175 »	»	—	3,49 »	In 24 Stunden.

Die Quantität des Harns von der Zeit der Vergiftung, welche nicht für die Harnstoffbestimmung diente, wurde zur Darstellung von Milchsäure verwendet und 0,256 gr. Zinklactat erhalten.

2. Versuch. 26. November 1893. Ein Kaninchen von 2032 gr. Körpergewicht, welches täglich 160 cbcm. Milch als Nahrung erhielt, wurde 6 Stunden mit CO vergiftet, erhalten:

Tabelle VI.

Datum.	Harnmenge.	Reaction.	Spec. Gew.	Harnstoff.	Bemerkungen.
24. XI. 93.	128 cbcm.	sauer	1,012	2,304 gr	Ohne Vergiftung.
25. » »	128 »	»	1,010	2,300 »	» »
26. » »	52 »	»	1,017	0,650 »	Während der Vergiftung.
	186 »	»	1,008	2,046 »	Nach der Vergiftung.
Summa .	238 cbcm.			2,696 gr.	

3. Versuch. 1. December 1893. Ein Kaninchen von 2550 gr. Körpergewicht, das täglich 160 cbcm. Milch durch die Schlundsonde drei Tage hintereinander erhielt, wurde am letzten dieser Tage 5 Stunden lang mit CO vergiftet. Die Harnausscheidungen ergaben:

Tabelle VII.

Datum.	Harnmenge.	Reaction.	Spec. Gew.	Harnstoff.	Bemerkungen.
29. XI. 93.	180 cbcm.	sauer	1,012	3,060 gr	Ohne Vergiftung.
50 » »	154 »	»	1,014	3,020 »	» »
1. XII. »	65 »	»	1.017	1,179 »	Während der Vergiftung.
	90 »	»	1,015	2,430 »	Nach der Vergiftung.
Summa .	155 cbcm.			3,600 gr.	

4. Versuch. 3. December 1893. Einem Kaninchen von 2300 gr. Körpergewicht, das mit gelben Rüben gefüttert war, wurde 24 Stunden die Nahrung entzogen, und die Quantität des ausgeschiedenen Harnstoffs während der Versuchszeit bestimmt.

Nachdem die Menge des ausgeschiedenen Harnstoffs bei 24 stündigem Hunger ermittelt war, wurde das Thier wieder 2 Tage mit dem früheren Futter ernährt, dann 7 Stunden lang mit CO vergiftet und nachher für den ganzen Tag kein Futter gegeben. Da das Thier vom Beginn der Vergiftung bis zum folgenden Tage (24 Stunden) keine Nahrung erhielt, so lässt sich durch Vergleichung dieser 24 stündigen Urin-Ausscheidung mit derjenigen bei Hungerzustand ohne Vergiftung die Einwirkung der Vergiftung sicher schätzen.

Tabelle VIII.

Datum.	Harnmenge.	Reaction.	Spec. Gew.	Harnstoff.	Bemerkungen.
30. XI. 93.	78 cbcm.	schwach alkalisch	1,020	1,80 gr	Beim 24 stünd. Hungern.
3. XII. »	70 »	sauer	1,018	1,03 »	Während der Vergiftung.
	82 »	»	1,016	1,20 »	Nach der Vergiftung.
Summa .	152 cbcm.			2,23 gr.	

Aus dem Harn, welcher während der Vergiftung aus der Blase ausgedrückt war, von dem nur ein kleiner Theil zur Bestimmung des Harnstoffs diente, wurde im Uebrigen Zinklactat 0,924 gr. (lufttrockenes Salz) dargestellt, 0,180 gr. von dem Zinksalz verloren, bei 115° C 0,028 gr. Wasser = 15,5 %, 0,152 gr. getrocknetes Salz gaben 0,049 gr. ZnO = 0,0394 gr. Zn oder 25,92 % Zn.

Wenn man mit v. Schröder[1]) die Leber als die Bildungsstätte des Harnstoffs betrachten darf, so sieht man hier auch, dass die harnstoffbildende Thätigkeit der Leber bei der CO Vergiftung durchaus nicht beeinträchtigt ist.

Dass bei Menschen, wahrscheinlich auch bei Säugethieren, die Harnsäure nicht ausschliesslich in der Leber entsteht, und

[1]) Archiv f. experiment. Pathol. u. Pharmakol., Bd. XV, S. 364.

dass die Leberfunction mit der Harnsäurebildung wohl überhaupt nicht zusammenhängt, ist bereits durch Horbaczewski[1]) wahrscheinlich gemacht. Er machte in zwei Fällen von hochgradiger Lebercirrhose, die ein letales Ende nahmen, Bestimmungen der Harnsäure und fand dabei die relative Menge der zur Ausscheidung gelangenden Harnsäure nicht vermindert, sondern etwas vermehrt. Von Interesse sind auch Beobachtungen von Nencki und Hahn[2]), welche an Hunden mit Eck'scher Fistel und unterbundener Leberarterie gemacht sind. Als Hauptergebnisse haben sich ergeben, dass nach der Operation eine Vermehrung der Ammoniakausscheidung im Harn stattfand, während in demselben Harn keine Spur von Milchsäure nachzuweisen war!

Obwohl wir weit davon entfernt sind, die oft bei acuter Leberatrophie und bei sonstigen Leberkrankheiten beobachtete Milchsäureausscheidung im Harne a priori auf Sauerstoffmangel zurückzuführen, dürfen wir doch auf Grund der oben angeführten Thatsachen es wohl als erwiesen ansehen, dass die beim Sauerstoffmangel im Organismus entstandene Milchsäure nicht mit Ernährungsstörung der Leber im directen nothwendigen Zusammenhang steht.

V. Ueber das Verhalten der Benzoësäure im Organismus bei CO-Vergiftung.

Aus Versuchen von A. Hoffmann[3]) geht hervor, dass die Hippursäurebildung aus Benzoësäure und Glycocoll in überlebenden Nieren aufhört, wenn dieselbe mit CO oder Chinin vergiftet werden.

Jaarsveld und Stockvis[4]) haben gezeigt, dass bei der durch subcutane Glycerin-Injection hervorgerufenen Hämoglobinurie und der mit letzterer einhergehenden Nierenaffection die Hippursäureausscheidung nach Benzoësäuregenuss gänzlich stockt oder beträchtlich beschränkt wird.

---

[1]) Monatshefte für Chemie, Bd. X, S. 630, 1889.

[2]) Archiv f. experiment. Pathol. u. Pharmakol., Bd. XXXII, S. 186.

[3]) Archiv f. experiment. Pathol. u. Pharmakol., Bd. VII, S. 233.

[4]) Archiv f. experiment. Pathol. u. Pharmakol., Bd. X, S. 282.

Nach Th. Weyl und B. v. Anrep[1]) scheint das Fieber einen gewissen Einfluss auf die Hippursäurebildung auszuüben. Aus ihren Versuchsergebnissen ist besonders Folgendes zu beachten:

«Ein normaler Hund scheidet bei Ernährung mit Eiweiss und Fett den grössten Theil eingeführter Benzoësäure als Hippursäure aus. Während des Fiebers wird ein grösserer Theil der eingeführten Benzoësäure in Form von freier Benzoësäure ausgeschieden, als während des normalen Zustandes».

Da die Richtigkeit der Anschauung von Hoffmann bis jetzt nicht am lebenden Thiere geprüft worden ist, so habe ich mich entschlossen, einige Versuche an Kaninchen anzustellen.

Kaninchen wurde Benzoësäure als Natronsalz im Wasser aufgelöst in den Magen eingespritzt. Der während der folgenden 24 Stunden ausgeschiedene Harn wurde auf darauf vorhandene Benzoësäure untersucht.

Dann wurde der Versuch bei demselben Thiere wiederholt, aber nach der Injection der Benzoësäure in den Magen die CO-Vergiftung des Thieres eingeleitet und längere Zeit erhalten. Dann wiederum die Benzoësäure in 24stündigem Harne bestimmt.

1. Versuch. 12. November 1892. Einem Kaninchen wurden 1,23 gr. benzoësaures Natron in den Magen eingespritzt. Aus dem dann in 24 Stunden ausgeschiedenen Harn wurden nur 0,018 gr. Benzoësäure erhalten.

Am 20. November 1892 wurden demselben Thiere 1,34 gr. benzoësaures Natron in den Magen eingebracht, darauf das Thier 8 Stunden lang in der CO-Vergiftung erhalten. Aus dem 24stündigem Harne wurden 0,099 gr. Benzoësäure erhalten.

2. Versuch. 20. November 1892. Einem starken Kaninchen wurden 1,08 gr. benzoësaures Natron in den Magen eingespritzt, darauf in 24stündigem Harne 0,017 gr. Benzoësäure gefunden.

Am 27. November 1892 bekam das Thier 1,264 gr. benzoësaures Natron in den Magen eingespritzt. Es wurde sogleich

---

[1]) Zeitschrift f. physiol. Chemie, Bd. IV, S. 189.

mit CO vergiftet und die Vergiftung 9 Stunden lang unterhalten. In 24stündigem Harne fanden sich 0,087 gr. Benzoësäure.

3. Versuch. 2. December 1892. Ein Kaninchen von 1670 gr. Körpergewicht erhielt 1,142 gr. benzoësaures Natron in den Magen eingespritzt. In 24stündigem Harne wurden gefunden:

0,519 gr. Hippursäure,
0,010 » Benzoësäure.

10. December 1892. Demselben Kaninchen wurden 1,29gr. benzoësaures Natron in den Magen eingespritzt und dann 10 Stunden lang die CO-Vergiftung eingeleitet und unterhalten.

In 24 Stunden wurden vom Thiere im Harne ausgeschieden:

0,373 gr. Hippursäure,
0,112 » Benzoësäure.

Somit ist also durch diese, freilich beschränkte Anzahl von Versuchen die von A. Hoffmann gemachte Beobachtung bestätigt, dass die Vereinigung der Benzoësäure und des Glycocoll zur Hippursäure in der mit CO-haltigem Blut durchgeleiteten Niere sehr unvollständig oder gar nicht stattfindet.

Wie Controle-Versuche übereinstimmend zeigen, habe ich auch beim normalen Kaninchen stets Benzoësäure, wenn auch sehr wenig, im Harne nach Benzoësäuregenuss nachweisen können. Dass diese Benzoësäureausscheidung auf die durch Histozym[1]) bewirkte Hippursäurespaltung zu beziehen sei, ist deshalb im höchsten Grade unwahrscheinlich, weil Minkowski[2]) nachgewiesen hatte, dass Kaninchenorgane nicht eine Spur von Hippursäurespaltung zu bewirken vermöchten, so lange sie nicht in deutlich wahrnehmbare Fäulniss übergegangen waren. Da aber bei der Fäulniss Benzoësäure leicht aus Hippursäure entsteht, so könnte man vielleicht mit van de Velde und Stockvis[3]) annehmen, dass die Umwandlung

[1]) Schmiedeberg, Archiv f. experiment. Pathol. u. Pharmakol., Bd. XIV, S. 382.

[2]) Archiv f. ecperiment. Pathol. u. Pharmakol., Bd. XVII, S. 358.

[3]) Archiv f. experiment. Pathol. u. Pharmakol., Bd. XVII, S. 214

der im Organismus gebildeten Hippursäure in Benzoësäure schon in der Harnblase durch Fäulnissbacterien hervorgebracht wurde. Es lässt sich jedoch nicht verkennen, dass bei CO-Vergiftung die Hippursäurebildung erheblich verhindert war.

VI. Ueber das Verhalten des milchsauren Natrons im Organismus bei CO-Vergiftung.

Dass milchsaures Salz leicht im Organismus zu kohlensaurem oxydirt wird, und daher selbst nach dem Genuss grosser Mengen milchsauren Natrons der Harn keine Spur von Milchsäure enthält, hat Liebig[1]) zuerst durch sorgfältige Untersuchungen nachgewiesen. Lehmann[2]) nahm 2 Drachmen milchsauren Natrons und fand schon 2 Stunden nachher den Harn alkalisch. Ferner injicirte er einem Hunde in die V. jugularis eine Drachme milchsaures Kali und fand nach einer Stunde den Harn dieses Hundes bereits alkalisch. Nach Nencki und Sieber[3]) scheint beim schweren Diabetes der Organismus noch die Fähigkeit zu besitzen, eingeführtes milchsaures Natron vollkommen zum kohlensauren zu oxydiren, wie beim Gesunden. Sie geben nämlich an:

«Wir haben trotzdem den Harn von 4 Tagen, nachdem die Kranke (die Diabetikerin) 80 gr. milchsaures Natron erhalten hatte, auf Milchsäure untersucht. Der Harn wurde auf vielen Schalen rasch zu Syrup verdunstet, der Rückstand mit H_2SO_4 angesäuert und mit Aether geschüttelt. Die vereinigten Auszüge hinterlassen nach Abdestilliren des Aethers einen syrupigen Rückstand, der nach Zusatz von etwas Wasser krystallinisch erstarrte. Die Krystalle waren Hippursäure und wogen nach dem Trocknen 2,6 gr. Die von den Krystallen abfiltrirte Mutterlauge wurde mit kohlensaurem Blei gekocht, filtrirt und zur Trockne verdunstet. Der jetzt erhaltene Rückstand wurde mit wenig Wasser aufgenommen, mit Schwefelwasserstoff zerlegt und das Filtrat von Schwefelblei mit Zinkhydroxyd gekocht.

---

[1]) Annal. d. Chemie u. Pharm., Bd. 62, S. 337, 1847.

[2]) Bei Nencki und Sieber citirt: Journal für prakt. Chemie, Bd. 26, S. 35.

[3]) Journal für pract. Chemie, Bd. 26, S. 35.

Die von überschüssigem Zinkhydroxyd filtrirte Flüssigkeit auf dem Wasserbade verdunstet, hinterliess einen minimalen Rückstand, aus dem sich beim Stehen über Schwefelsäure eine Menge glänzender, tafelförmiger Kryställchen abgeschieden hat; allem Anscheine nach hippursaures Zink. Milchsäure war in dem Harne nicht vorhanden und der Diabetiker verbrennt demnach ebenso, wie der Gesunde, pflanzensaure zu kohlensauren Alkalien».

Da aber die so leicht oxydirbare Milchsäure beim Sauerstoffmangel und bei CO-Vergiftung constant und zwar in reichlicher Menge im Harne auftritt, so lässt sich wohl erwarten, dass bei CO-Vergiftung das in den Organismus eingeführte milchsaure Natron von der Oxydation verschont bleibt und als solches im Harne ausgeschieden wird. Diese Voraussetzung ist durch nachstehende Versuche vollkommen bestätigt worden.

1. Versuch. 28. November 1892. Ein Kaninchen, dem 3,39 gr. milchsaures Natron in Wasser gelöst unter die Haut gespritzt war, wurde sofort hiernach 6 Stunden lang mit CO vergiftet erhalten. Die während der Vergiftung aufgefangenen Urinportionen reagirten neutral oder sehr sauer und aus denselben wurden 2,99 gr. milchsaures Zink dargestellt.

1. December 1892. Demselben Kaninchen wurden 4,21 gr. milchsaures Natron unter die Haut gespritzt, ohne dass es mit CO vergiftet wurde. Aus dem in 24 Stunden nach der Injection entleerten Harne, der stark alkalisch reagirte, wurden 0,02 gr. milchsaures Zink dargestellt.

2 Versuch. 3. December 1892. Einem starken Kaninchen wurden 4,33 gr. milchsaures Natron unter die Haut gespritzt, dann das Thier sogleich mit CO vergiftet und in der Vergiftung 9 Stunden erhalten.

Aus dem während dieser Vergiftung entleerten Urin, der schwach sauer reagirte, wurden 4,08 gr. milchsaures Zink dargestellt.

5. December 1892. Demselben Kaninchen wurden 4,42 gr. milchsaures Natron unter die Haut eingespritzt. In dem stark alkalischen Harne, den das Thier in 24 Stunden nach der Injection unter die Haut lieferte, war keine Spur von Milchsäure aufzufinden.

3. Versuch. 6. December 1892. Einem Kaninchen wurden 4,45 gr. milchsaures Natron unter die Haut injicirt. Nach der Injection wurde es 9 Stunden lang mit CO vergiftet erhalten. Aus dem während der Vergiftung entleerten Harne, der schwach sauer reagirte, wurden 4,77 gr. milchsaures Zink dargestellt.

9. December 1892. Demselben Kaninchen wurden 4,02 gr. milchsaures Natron unter die Haut injicirt. Im Harne, den das Thier in den nächsten 24 Stunden nach dieser Injection entleerte, liess sich keine Spur von Milchsäure nachweisen.

4. Versuch. 12. December 1892. Ein 8,960 Kilo schwerer Hund wurde zuerst eine Stunde lang mit CO vergiftet, dann wurden ihm 5,14 gr. milchsaures Natron unter die Haut eingespritzt. Nach der Injection blieb er noch 8 Stunden mit CO vergiftet. Die Menge des milchsauren Zinks, welches aus dem während der Vergiftung entleerten Harne dargestellt wurde, betrug 4,93 gr. Die sämmtlichen Harnportionen reagirten neutral.

14. December 1892. Derselbe Hund erhielt 5,53 gr. milchsaures Natron unter die Haut injicirt. In den während der nächsten 24 Stunden nach der Injection entleerten, stark alkalisch reagirenden Harnportionen war keine Spur von Milchsäure nachzuweisen.

Tabelle IX.

Datum.	Versuchsdauer.	Menge des eingeführten Natriumlactat.	Menge des aus dem Harne dargestellten Zinklactat.	Reaction des Harns.	Bemerkungen.	
28. XI. 92.	6 Stund.	3,39 gr.	2,99 gr.	sauer	Mit CO-Vergiftung	an Kaninchen
1. XII. »	24 »	4,21 »	0,02 »	stark alkalisch	Ohne »	
3. » »	9 »	4,33 »	4,08 »	schwach sauer	Mit »	
5. » »	24 »	4,42 »	—	stark alkalisch	Ohne »	
6. » »	9 »	4,45 »	4,77 »	schwach sauer	Mit »	
9. » »	24 »	4,02 »	—	stark alkalisch	Ohne »	
12. » »	9 »	5,14 »	4,93 »	neutral	Mit »	an Hunden
14. » »	24 »	5,53 »	—	stark alkalisch	Ohne »	

Wie aus der vorliegenden Tabelle ersichtlich ist, nahm trotz der subcutanen Injection des milchsauren Natrons der

alkalische Kaninchenharn bei CO-Vergiftung stets neutrale oder saure Reaction an und zeigte der Hundeharn unter gleichen Bedingungen nur neutrale Reaction, während ohne CO-Vergiftung der Harn von beiden Thieren, Kaninchen und Hund, nach der Einführung des Natriumlactates in den Organismus ausnahmslos stark alkalisch reagirte.

Die Quantität der Milchsäure, die im Harne ausgeschieden wurde, war immer weniger, als diejenige der unter die Haut injicirten Milchsäure. Dass der Unterschied, der zwischen der injicirten und der im Harne auftretenden Milchsäure besteht, nicht auf die Oxydation, sondern auf die unvollkommene Resorption des eingespritzten Natriumlactates zurückgeführt werden muss, dafür spricht vor allem der Umstand, dass der während der Vergiftung aufgefangene Harn stets sauer oder neutral reagirte. Wenn man solange die Vergiftung fortsetzen kann, bis die vollständige Resorption des unter die Haut eingebrachten Natriumlactats erfolgt, so ist es höchst wahrscheinlich, dass die Menge der im Harne ausgeschiedenen Milchsäure diejenige der injicirten übertrifft, da bei CO-Vergiftung auch Milchsäure im Organismus selbst entsteht und im Harne zum Vorschein kommt. Es ist auch selbstverständlich, dass die CO-Vergiftung nicht soweit getrieben werden darf, dass die Oxydation ganz unterbleibt, weil sonst das Thier schnell stirbt. Es muss noch hervorgehoben werden, dass Stadelmann[1]) einmal die Milchsäure im Harne von einem Diabetiker, welcher vorher Milchsäure (täglich etwa 4,5 gr.) als Ordination erhielt, gefunden hat. Da in der Abhandlung von Stadelmann nichts weiter angegeben ist als folgendes: «Da der Patient täglich etwa 4,5 gr. Milchsäure als Ordination innerlich erhielt, so bleibt es fraglich, ob die gefundene Milchsäure nur als Rest der im Organismus des Patienten nicht weiter oxydirten Milchsäure oder als ein abnormes Stoffwechselproduct angesehen werden muss», — so könnte man annehmen, dass der Patient nicht milchsaures Natron, sondern freie Milchsäure bekam. Dass freie Milchsäure[2]) im Organismus viel schwerer oxydirt

---

[1]) Archiv f. experiment. Pathol. u. Pharmakol., Bd. XVII, S. 442.
[2]) Goltz, Centralblatt für med. Wissensch. 1867.

wird, als deren Salze, und dass durch Zufuhr freier Säure[1]) in den Organismus die Oxydationsvorgänge im hohen Grade gestört werden, sind unbestreitbare Thatsachen. Aus diesen Thatsachen lässt sich wohl erklären, warum Nencki und Sieber umsonst den Harn, den eine Diabetikerin nach reichlichem Genuss milchsauren Natrons entleerte, auf die Milchsäure untersucht haben, während Stadelmann dieselbe im Harne von einem Diabetiker, dem freie Milchsäure eingegeben war, hat nachweisen können.

VII. Ueber die Bildung von Milchsäure aus Kohlenhydraten durch Einwirkung von Aetzalkali oder Gährung.

Die Bildung von Milchsäure aus Kohlenhydraten ausserhalb des Organismus kann bekanntlich leicht erreicht werden, nicht allein durch Fäulnissbacillen verschiedener Art in nahezu neutralen Lösungen, sondern auch durch Einwirkung von Aetzalkalien. Die erstere Bildungsweise erscheint in so weit als die allgemeinere, als auch aus gewissen Kohlenhydraten, welche durch Aetzalkalien nicht zersetzt werden, Milchsäure durch Bacterien gebildet werden kann.

Wie weit aber die Einwirkung von Aetzalkali auf Zuckerarten zur Entstehung von Milchsäure führt, ist noch nicht genügend abgegrenzt, insbesondere noch nicht ermittelt, ob alle diejenigen Zuckerarten, welche Kupferoxyd in alkalischer Lösung reduciren, durch Einwirkung des Alkalis bei Abwesenheit einer leicht reducirbaren Substanz die Bildung von Milchsäure veranlassen, wie dies bezüglich der Glycose und des Milchzuckers bereits bekannt ist.

Zur Aufklärung dieser Verhältnisse habe ich einige Zuckerarten in dieser Richtung untersucht und zugleich darauf Rücksicht genommen, in wie weit als Nebenproducte der Aetzalkalieinwirkung Aceton, Brenzcatechin, Ameisensäure in grösserer oder geringerer Quantität erscheinen. Es konnten jedoch nur diejenigen Zuckerarten hier in Betracht kommen, welche in genügend reinem Zustande mir erreichbar waren.

---

[1]) Munk, Verhandl. der physiol. Gesellschaft z. Berlin, 17. Aug. 1881.

I. Mannose.

Das von Kahlbaum in Berlin bezogene Präparat zeigte in seinem Verhalten gegen basisches Bleiacetat schnelle Abscheidung der krystallinischen Hydrazinverbindung auf Zusatz von essigsaurem Phenylhydrazin zur kalten, wässerigen Lösung, leichte und vollständige Vergährung zu Alkohol und CO_2 mit Presshefe und geringe Rechtsdrehung der wässerigen Lösung, gute Uebereinstimmung mit den bekannten Eigenschaften der Mannose.

50 gr. des Syrups wurden mit 50 cbcm. einer Natronlauge von 1,27 spec. Gewicht und gleichem Volumen Wasser in einer Retorte gemischt und ungefähr 1 Stunde auf dem Wasserbade erhitzt. Nach dem Erkalten wurde die bräunliche Flüssigkeit mit der zur Sättigung der Natronlauge erforderlichen Quantität verdünnter Schwefelsäure versetzt, noch Wasser zugefügt und so lang destillirt, bis das Destillat nicht mehr stark saure Beschaffenheit zeigte. Aus dem Destillate wurde durch Sättigung mit Barytwasser, Einleiten von Kohlensäure, Filtration und Eindampfen des Filtrats ein Barytsalz erhalten, welches durch Reduction von Silbernitrat sowie von Quecksilberchlorid die Uebereinstimmung mit dem Verhalten des ameisensauren Salzes zeigte.

Aus dem in der Retorte verbliebenen Rückstande wurde durch Ausschütteln mit grossen Mengen Aether Milchsäure und Brenzcatechin aufgenommen, durch Schütteln mit Wasser und Baryumcarbonat getrennt. Die wässerige Lösung der Milchsäure wurde genau durch verdünnte Schwefelsäure getrennt, durch Ausschütteln mit Aether aufgenommen und durch Kochen mit Zinkcarbonat in das Zinksalz verwandelt. Das erhaltene Zinklactat betrug 7,16 gr., bildete Krusten prismatischer Krystalle von bekannter Form, zeigte etwas geringeren, als den berechneten Gehalt an Krystallwasser.

Berechnet:	Gefunden:
18,19 %.	17,30 % R_2O.

Dagegen bei der Fällung von 0,574 gr. wasserfreien Salzes mittelst Natriumcarbonat und Glühen des basischen Zinkcarbonats erhalten 0,195 gr. ZnO oder 0,156 gr. Zn.

Berechnet:	Gefunden:
26,74 %.	27,00 % Zn.

Beim Erhitzen einer Portion des Zinksalzes im zugeschmolzenen Rohr mit verdünnter Schwefelsäure wurden Aldehyd und Ameisensäure erhalten.

Das aus der Aetherlösung gewonnene Brenzcatechin wurde durch seine bekannten Reactionen mit Sicherheit constatirt.

II. Formose.

Das Gemenge von Kohlehydraten, welches zuerst von Butlerow[1]) aus Formaldehyd durch Einwirkung von Kalk dargestellt, von demselben Methylenitan genannt, darauf von Löw[2]) nach einem verbesserten Verfahren gewonnen als Formose bezeichnet, von E. Fischer[3]) einer eingehenden Untersuchung unterworfen ist, hat Löw zuerst auf sein Verhalten gegen Aetzbaryt geprüft und hierbei wahrscheinlich Milchsäure erhalten.

Löw[4]) digerirte 8 gr. dickes Formosesyrups mit 50 cbcm. Wasser und 10 gr. Barytkrystalle einige Stunden auf dem Wasserbade und bekam eine Säure, deren Zinksalz genau den Formen des milchsauren Zinks entsprach. Wegen der zur Verfügung stehenden sehr geringen Menge war es ihm kaum möglich, bei der Analyse eine genaue mit dem berechneten Zinkgehalte übereinstimmende Zahl zu finden.

Nach Tollens[5]) gibt das Methylnitan beim Kochen mit Schwefelsäure eine recht geringe Menge Milchsäure.

10 gr. Formosesyrup nach dem Verfahren von Löw gewonnen, wurden von mir mit 10 cbcm. Natronlauge von 1,27 spec. Gew. und 10 cbcm. Wasser in einer Retorte 1 Stunde auf dem Wasserbade erhitzt. Die hierbei in die vorgelegte Flasche übergegangene geringe Menge Flüssigkeit roch deutlich nach Aceton, gab Jodoform bei Lieben'scher Reaction, aber keine deutliche Färbung mit Nitroprussidnatrium und Aetznatron.

1) Compt. rend. 53, p. 145.
2) Journal f. pract. Chemie, Bd. 33, S. 321.
3) Berichte d. deutschen chemisch. Gesellsch., Bd. 21, S. 989, 1888.
4) A. a. O., S. 344.
5) Bericht d. deutsch. chem. Gesellsch., Bd. 16, S. 920.

Nach dem bezüglich der Mannose geschilderten Verfahren wurde Milchsäure, Ameisensäure, Brenzcatechin erhalten.

Die Quantität des gereinigten Zinklactats betrug 1,632 gr. 0,561 gr. vom trockenen Lactate gaben 0,185 gr. ZnO = 0,149 gr. Zn.

Berechnet:	Gefunden:
26,74 %.	26,54 % Zn.

Beim Erhitzen einer Portion des Zinksalzes im zugeschmolzenen Glasrohre mit verdünnter Schwefelsäure wurden Aldehyd und Ameisensäure erhalten.

III. Fructose.

W. Ssorokin[1]) hat nachgewiesen, dass Milchsäure bei der Einwirkung von Aetznatron und Barythydrat auf Lävulose unter den verschiedenen Bedingungen hinsichtlich der Concentration der Lösung und der Temperatur entsteht. Dieser Befund ist durch den nachstehenden Versuch bestätigt worden.

Für die Untersuchung diente ein Präparat in kleinen Krystallen, welches in wässeriger Lösung Linksdrehung die mit der Aenderung der Zimmertemperatur eine bedeutende Aenderung der Stärke der Ablenkung zeigte, leicht erfolgende Gährung mit Hefe und Bildung von Glycosazon beim Erhitzen der Lösung mit essigsaurem Phenylhydrazin ergeben hatte.

8 gr. des Zuckers in 10 cbcm. Natronlauge und 10 cbcm. Wasser gelöst in einer Retorte eine Stunde auf dem Wasserbade erhitzt. Die während dieser Behandlung in die Vorlage überdestillirte Flüssigkeit gab sehr schöne Lieben'sche Jodoformreaction, färbte sich schwach roth mit Nitroprussidnatrium und Natronlauge.

Aus der braunen Flüssigkeit wurden nach der oben geschilderten Methode 3,03 gr. Zinklactat neben Ameisensäure und Brenzcatechin erhalten.

0,2675 gr. vom lufttrockenen Zinksalz verloren bei 110° C. 0,050 gr. H_2O.

Berechnet:	Gefunden:
18,19 %.	18,69 % H_2O.

---

[1]) Jahresbericht der Chemie 1885, S. 1339.

0,2175 gr. wasserfreies Zinksalz gaben 0,0715 gr. ZnO oder 0,0573 gr. Zn.

Berechnet:	Gefunden:
26,74 %.	26,35 % Zn.

Beim Erhitzen des Zinksalz mit verdünnter Schwefelsäure im zugeschmolzenen Rohre wurden Ameisensäure und Aldehyd erhalten.

IV. Arabinose.

4,422 gr. Arabinose (Präparat von Kahlbaum) in 4,5 cbcm. Natronlauge von 1,27 spec. Gew. und 4,5 cbcm. Wasser gelöst und eine Stunde auf dem Wasserbade erhitzt. Es wurden 0,478 gr. gereinigtes Zinksalz erhalten.

0,197 gr. lufttrockenes Salz gaben bei 110° C. getrocknet 0,161 gr. trockenen Rückstand und dieser 0,054 gr. ZnO oder 0,434 gr. Zn.

Berechnet:	Gefunden:
18,19 %.	18,27 % H_2O.
26,74 »	26,95 » Zn.

Beim Erhitzen dieses Zinksalzes mit verdünnter Schwefelsäure im zugeschmolzenen Rohre wurden Ameisensäure und Aldehyd erhalten.

V. Galactose.

Dass bei der Behandlung der Galactose mit Aetzalkali Milchsäure entsteht, scheinen Nencki und Sieber[1]) bereits nachgewiesen zu haben. Da aber in ihrer Abhandlung nichts weiteres zu finden ist, als — «die nach Fudakowski's Vorschrift bereitete Galactose, mit Alkali digerirt, lieferte uns ebenfalls Gährungsmilchsäure», — habe ich mich entschlossen, die Einwirkung des Alkali auf die Galactose weiter zu verfolgen.

53 gr. reiner Galactose (Präparat Merck, Darmstadt) wurden mit 53 cbcm. Natronlauge von 1,27 spec. Gew. und 53 cbcm. Wasser gemischt und 1 Stunde auf dem Wasserbade erhitzt. Die während dieser Behandlung in die Vorlage übergegangene Flüssigkeit roch deutlich nach Aceton und gab sehr schöne Jodoformreaction und rothe Färbung mit Nitroprussidnatrium und Natronlauge.

---

[1]) Journal f. pract. Chemie, Bd. 24, S. 503.

Nach dem geschilderten Verfahren wurden Ameisensäure und Brenzcatechin erhalten, aber Milchsäure nur in geringer Menge. Das dargestellte Zinklactat war gar nicht krystallisirt.

Zur Darstellung der Milchsäure wurden nach gleicher Methode wieder 12 gr. und 20 gr. Galactose hintereinander bearbeitet. Die zwei Portionen des nicht krystallisirten Zinksalzes wurden mit der ersten vereinigt, in Wasser aufgelöst und mit Schwefelwasserstoff zersetzt. Nachdem die von Schwefelzink abfiltrirte Flüssigkeit auf dem Wasserbade zum dünnen Syrup eingedampft war, wurde Milchsäure mit Aether ausgeschüttelt und nach dem Abdestilliren des Aethers durch Kochen mit Wasser und Calciumcarbonat in Calciumsalz übergeführt. Das mit Thierkohle gereinigte Calciumlactat betrug 1,462 gr.

0,108 gr. lufttrockenen Salzes verloren bei 110° C. 0,0285 gr. H_2O.

Berechnet:	Gefunden:
29,22 %.	26,40 %.

0,0795 gr. wasserfreien Salzes im Platintiegel stark geglüht gaben 0,0202 gr. CaO oder 0,0144 gr. Ca.

Berechnet:	Gefunden:
18,32 %.	18,11 % Ca.

VIII. Ueber die Verhältnisse der Bildung und Ausscheidung von Glycose und Milchsäure bei Sauerstoffmangel.

Die in der vorstehenden Arbeit geschilderten Versuche sind unternommen, um nicht allein weiterhin Gewissheit darüber zu erlangen, dass bei gesunden und gutgenährten Thieren die beschriebenen Folgen des Sauerstoffmangels in jedem Falle constant eintreten (Ausscheidung von Glycose, Milchsäure, Eiweissstoffe), sondern auch über die Ursachen, Begleiterscheinungen und Folgezustände dieser Ausscheidungen im Harne sichere Aufschlüsse zu erhalten. Wenn nun bei der Herstellung des Sauerstoffmangels durch narkotische (wie Morphium, Strychnin, Curare, deren directes Eingreifen in die chemischen Processe des Organismus noch ganz unbekannt sind) und andere Gifte es von vornherein unsicher erscheinen konnte, ob die Ausscheidung der genannten Stoffe im Harne allein und ganz als durch den Sauerstoffmangel bedingt angesehen werden dürften, konnte ein Zweifel hierüber kaum

bestehen bezüglich der Kohlenoxydvergiftung, weil hier der Sauerstoffmangel durch die Kohlenoxydverbindung des Blutfarbstoffs sicher erwiesen ist; ebensowenig konnte ein Zweifel bezüglich des Amylnitrits bestehen, da dieses Gift den Blutfarbstoff in dem circulirenden Blute zerstört, wie die Spectraluntersuchung längst kennen gelehrt hat. Am allerwenigsten aber konnte ein Zweifel noch bestehen, wenn der Sauerstoffmangel hergestellt wurde durch Athmen des gesunden Thieres in einer Luft, welche nur durch das Athmen des Thieres selbst ärmer und ärmer an Sauerstoff wurde, während diese Luft zugleich möglichst frei von CO_2 erhalten wurde (nämlich durch fortdauerndes Circuliren der Luft durch starke Kalilauge). Alle diese neueren Versuche haben übereinstimmend mit den früheren weiter festgestellt, dass diese Aenderungen der Ausscheidungen im Harne ganz constant eintreten und dass reichliche Quantitäten von Glycose (bis über 4% der Harnmenge) und Milchsäure bis 2% (als Zinksalz berechnet) derselben bei gut genährten Kaninchen im Harne ausgeschieden werden.

Es war nun vornherein anzunehmen, dass die Bildung des Zuckers, welcher im Harn erscheint, aus Glycogen herzuleiten sei und die Bildung der Milchsäure wieder aus einer Spaltung des Zuckers. Die Bildung von Zucker und Milchsäure und die Abnahme von Glycogen im gereizten lebenden Muskel ist bereits früher genügend festgestellt, nur hatte man diesen Process nicht als Folge des Sauerstoffmangels aufgefasst, sondern dem gereizten Muskel diese Spaltung als zugehörige Function auch unter normalen Verhältnissen bei gutem Sauerstoffzutritt zugeschrieben. Dass nach Aufhebung der Circulation im Muskel der freie und am Blutfarbstoff locker gebundene Sauerstoff sehr bald verschwindet, d. h. in feste Verbindung eintritt, ist eine so sicher constatirte und leicht nachweisbare Thatsache, dass wir nicht nöthig haben, bei diesem Gegenstand länger zu verweilen.

In den Versuchen der Abschnitte II und III der vorstehenden Mittheilung ist nun gezeigt, dass bei Sauerstoff-

mangel, mochte derselbe mit Kohlenoxyd, mit Amylnitrit oder mit sauerstoffarmer Luft hergestellt sein, das Glycogen der Leber und der Muskeln in gesunden, gutgenährten Thieren (Kaninchen) abnimmt, während Zucker und Milchsäure gebildet und im Harne ausgeschieden werden. Die Milchsäure kann hierbei nicht im freien Zustande bestehen bleiben, sie entzieht dem Organe, in dem sie sich bildet (Muskeln, Leber), Alkali und tritt im Blute und im Harne als Alkalilactat auf. Es treten zugleich, wie es nicht anders sein kann, die Erscheinungen der Alkalientziehung im Blute und den Organen ein; das Blut mit verdünnter Normaloxalsäure hinsichtlich des Gehaltes an Alkalicarbonat geprüft, verlangt eine geringere Quantität Säure zur Sättigung als im normalen Zustande, wie die oben geschilderten Versuche mit aller Entschiedenheit ergeben haben; es werden also auch die Erscheinungen des erschwerten Abflusses des CO_2 aus den Organen in das Blut und von da in die Lungenluft sich einstellen. Schon bei der Bildung der Milchsäure innerhalb der Organe, z. B. der Muskeln, wird dem Kaliumphosphat ein Theil seines Kaliums entzogen und Monokaliumphosphat gebildet, dabei aber sogleich aus dem das Organ durchströmenden Blute der Alkaliersatz erfolgen. In nächster Verbindung mit diesem Alkaliverluste an die Milchsäure steht die Aenderung der Reaction des Harnes. Ganz constant hat sich in den Versuchen an Kaninchen, deren Harn bei ihrer Pflanzennahrung trübe und mit sehr deutlich alkalischer Reaction abgeschieden wird, so lange sie hinreichend sauerstoffhaltige Luft athmen, ergeben, dass nach wenigen Stunden des Athmens sauerstoffärmerer Luft vollständiges Klarwerden der neuabgeschiedenen Harnportionen, Abnahme der alkalischen Reaction, dann neutrale bald darauf, sowie endlich stärker saure Reaction eintritt. Natürlich ist auch hier im Harne so wenig als in den Muskeln freie Milchsäure, aber reichlich sauer reagirendes Alkaliphosphat zugegen.

Der Sauerstoffmangel führt sonach bei gut genährten Thieren durch die Milchsäurebildung zu einer Selbstvergiftung und es ist dies unzweifelhaft ein wichtiges Moment für die

Beurtheilung der consecutiven Erscheinungen bei Kohlenoxydintoxication, starker Kälteeinwirkung auch wohl bei narcotischen Vergiftungen als Ursache des Sauerstoffmangels.

Eine Reihe von Arbeiten, ausgehend von der Frage über die Herkunft der Reize, welche die Athembewegungen anregen, von Geppert und Zuntz, A. Loewy, Curt Lehmann 1888 publicirt in Pflüger's Archiv, Bd. 42, S. 189, S. 281 und S. 284—302, haben zu den Schlüssen geführt, dass diese Anregung geschehe durch unbekannte Stoffe, welche bei der Thätigkeit im Muskel entstehen, in das Blut übergehen, im Blute wie eine Säure wirken und die Tension der CO_2 erhöhen. Aus den von mir geschilderten Untersuchungen ist ersichtlich, dass die Milchsäure, entstehend bei O_2-Mangel, ganz diesen Verhältnissen entspricht. Die eingehenderen Nachweise bleiben vorbehalten.

Auch bei hochgradigem Sauerstoffmangel tritt ein besonders hoher Gehalt des Blutes an milchsaurem Salz und an Zucker nicht ein, weil durch die Nieren dieselbe stets ausgeschieden werden.

Es ist eine auffallende, sehr interessante aber in ihren Ursachen noch nicht erkannte Erscheinung, dass das Blut normaler Thiere stets sehr geringe Mengen von Glucose und von Milchsäure enthält, die eine Beziehung zu reichlicherer oder geringer Zufuhr bestimmter Stoffe in der Nahrung so wenig gezeigt haben als zur Ausscheidung in den Nieren. Von Glycose enthält der normale Urin allerdings Spuren, aber auch diese scheinen im Wesentlichen, jedenfalls in sehr weiten Grenzen unabhängig von der Ernährung zu sein. Milchsäure ist im normalen Harne überhaupt noch nicht gefunden. Bringt man nun milchsaures Natron in das Unterhautbindegewebe, so geht dies bei normaler Athmung des Thieres nicht in den Harn über, nur das durch seine Oxydation gebildete Natriumcarbonat wird im Harne ausgeschieden; injicirt man aber die wässrige Natriumlactatlösung unter die Haut eines Thieres, welches durch Kohlenoxydeinathmen in starken Sauerstoffmangel versetzt ist, so erscheint das Lactat als solches im Harne und wird in kurzer Zeit ganz entfernt.

Da der Sauerstoffmangel selbst Lactat bildet, kann noch mehr ausgeschieden werden als davon unter die Haut gebracht war. Die oben beschriebenen Versuche (vergl. Seite 455—459) beweisen die Richtigkeit dieser Angabe.

Harnstoff und Harnsäure werden im normalen Zustande durch eine besondere noch unerklärte Befähigung der Epithelzellen der Harnkanälchen in der Niere dem Blute entzogen und in dem secernirten Harne angehäuft. Das Blut enthält von beiden Körpern nur einen minimalen Gehalt, während der von der Niere ausgeschiedene Harn häufig viele Procente von ihnen wegführt. Auch Hippursäure und viele andere normal in den Harn übergehende Stoffe wie Indoxylschwefelsäure werden im Blute oder andere Organe entweder gar nicht oder nur in Spuren angetroffen, während der Harn reich daran sein kann. Im Diabetes mellitus ist der Gehalt des Blutes soweit bekannt, stets nur gering gegen den Gehalt des Harnes, im Blute nur Promille, im Harne mehrere Procente. Mag man nun über den Ort der Entstehung des Harnstoffs so oder so denken, jedenfalls ist nicht bewiesen, dass er allein in der Leber gebildet wird, so wenig als dies bezüglich der Harnsäure feststeht. Dass aber der Niere allein die Fähigkeit eigen ist, unter normalen Verhältnissen den Harnstoff und die Harnsäure dem Blute zu entziehen und im Harne anzuhäufen, kann gar nicht bezweifelt werden. Allerdings haben die secernirenden Zellen der Schweissdrüsen unter gewissen Bedingungen Aehnliches gezeigt, was hier nicht bestritten werden soll, aber es tritt ihre Wirkung unter normalen Verhältnissen nicht allein hinter der der Nieren weit zurück, sondern es scheint auch den Schweissdrüsenzellen die Fähigkeit der Harnstoffansammlung entweder ganz zu fehlen oder nur in ganz geringem Grade eigen zu sein. Von anderen Organen ist bezüglich des Harnstoffs, der Harnsäure, des Zuckers und des milchsauren Salzes etwas Aehnliches gar nicht bekannt. Es ist nun eine besonders merkwürdige Erscheinung, dass diese characteristische Fähigkeit der Nieren, Stoffe, wie Harnstoff, Glycose etc., aus dem Blute angesammelt im Harne wegzuführen und so das

Blut bis auf Spuren von diesen Stoffen befreit zu erhalten, bei Sauerstoffmangel noch fort besteht, obwohl die Nieren selbst dabei krankhaft afficirt sind.

Den Beweis krankhafter Veränderung ergibt der Gehalt an coagulablen Albuminstoffen (Albumin und Globulin) im Urine, welcher bei genügendem Sauerstoffmangel nie fehlt, während gesunde Nieren mit derselben Entschiedenheit die Eiweissstoffe in den Harn nicht übertreten lassen, wie sie andererseits Harnstoff, Harnsäure, Glycose und viele andere Stoffe im Harne ansammeln und ausscheiden.

Unter normalen Verhältnissen besitzen die Nieren ohne Zweifel ein besonders kräftiges Oxydationsvermögen und im starken arteriellen Blutstrome eine reiche Sauerstoffzufuhr.

Die durch die in vorstehender Arbeit bewiesene Thatsache, dass bei Thieren, welche genügende Mengen von Sauerstoff in der Luft einathmen, der Harn frei ist von milchsaurem Salz, auch wenn dasselbe in reichlicher Quantität in wässeriger Lösung in das Unterhautgewebe eingespritzt war, dass aber das Lactat als solches in den Urin übergeht bei Mangel an Sauerstoff im Blute, lässt keine andere Erklärung zu, als dass die Milchsäure bei guter Sauerstoffzufuhr durch Oxydation entfernt wird, bei Sauerstoffmangel dagegen unverändert in den Harn übertritt.

In einer Abhandlung von Minkowski[1]) über die Folgen der Leberexstirpation gegenüber der alleinigen Ableitung des Venenblutes der Pfortader von der Leber bei intacter Zufuhr von arteriellem Blut ist am Schlusse darauf hingewiesen, dass das Auftreten von Milchsäure in unseren Versuchen vielleicht durch eine Störung in den Functionen der Leber und die Ausscheidung von Glucose durch Ernährungsstörungen des Pankreas, die Albuminurie durch Einwirkung auf die Niere zu erklären sei. Bezüglich der letzten Erklärung stimmen wir, wie bereits mehrfach ausgesprochen ist, vollständig überein,

---

[1]) Minkowski: Ueber die Ursachen der Milchsäureausscheidung nach der Leberexstirpation. Arch. f. experim. Pathologie u. Pharmacologie, Bd. 31, S. 214.

hinsichtlich der Vermuthungen über die Milchsäureausscheidung wegen Erkrankung der Leber und Glycoseausscheidung wegen Störung der Pankreasthätigkeit müssen wir hervorheben, dass für diese Hypothesen eine Begründung durchaus fehlt, dass aber die von Minkowski gefundene reichliche Ausscheidung von Milchsäure im Harne der Thiere nach Exstirpation der Leber gar nicht anders erklärt werden kann, als (wie es bereits von uns ausgesprochen ist) durch Mangel an Sauerstoff, hervorgerufen durch die Störung der Blutcirculation. Unter den Functionen der gesunden Leber im lebenden Thiere ist abgesehen von der Secretion der Galle, über deren Bildung die Leberexstirpationen bis jetzt noch keinen Aufschluss gegeben haben, wohl am Sichersten festgestellt die Bildung von Glycogen, und Niemand wird noch in Zweifel ziehen, dass dieselbe durch Synthese unter Wasserabtrennung erfolgt. Man könnte nun glauben, dass nach Exstirpation der Leber Kohlehydrat statt in Glycogen in Milchsäure übergeführt werde. Ich möchte hierbei nur hervorheben, dass die Thiere nach diesem gewaltigen operativen Eingriff wohl stets zu sehr erschöpft und krank sein werden, um sich gut zu nähren, vom Darm her Stoffe zu resorbiren, die in Glycogen umgewandelt werden können. Dass übrigens auch andere Organe in geringerem Grade, auch abgesehen von den Muskeln, Glycogen zu bilden vermögen, ist sicher erwiesen. Die Bildung von Zucker und Milchsäure bei Sauerstoffmangel und unverletzter Leber wird vielleicht zum bedeutenden Theile in diesem Organe erfolgen — meine obigen Versuchsresultate sprechen hierfür — aber wenn wir dies selbst sicher wüssten, würde damit die Ausscheidung von Zucker und Milchsäure im Harne noch gar nicht erklärt sein.

Nach den Vergleichen, die ich oben geschildert habe (vergl. Seite 438—447), ergab sich, dass die Niere die besprochene Fähigkeit der Ansammlung aus dem Blute und der Ausscheidung in höherem Procentgehalte des Harns nicht allein bezüglich des Harnstoffs und der Harnsäure, sondern ebenso bezüglich der Glucose und der Milchsäure und zwar noch bei

starkem Sauerstoffmangel besitzt. Die von Minkowski im Harne der Thiere nach Leberexstirpation gefundenen hohen Gehalte an Milchsäure können nicht als solche aus dem Blute übernommen, sondern aus durch Ansammlung in den Zellen der Nierentubuli in so hohem Procentgehalte dem Harne zugeführt sein; die im Blute bei diesen Thieren nach Leberexstirpation befindliche Milchsäure würde gar nicht in den Harn übergetreten, sondern oxydirt sein, wenn bei ihnen starker Sauerstoffmangel nicht existirt hätte. Jede Vergleichung des Milchsäuregehaltes im Blute dieser Thiere mit dem ihres Harnes wird die Richtigkeit dieser Folgerung ganz entschieden nachweisen.

Die von anderen Experimentatoren bereits früher, allerdings in sehr anfechtbarer Weise, gefundene, in vorstehender Arbeit bestimmt nachgewiesene, gegen den normalen Zustand vergrösserte Ausscheidung von Harnstoff durch die Nieren bei Sauerstoffmangel kann wohl auch als ein Beweis der ungestörten Leberfunction in obigen Versuchen gelten. Im Uebrigen sind Störungen von irgend welchen Functionen der Leber und des Pankreas bei den Thieren, mit denen die Versuche von mir angestellt wurden, gar nicht aufgefunden, auch keine Andeutung davon. Die Thiere, welche nicht (zur Prüfung auf Glycogengehalt, Milchsäuregehalt etc. ihrer Organe) in den Versuchen getödtet wurden, zeigten sich wenige Stunden nach den Versuchen gesund, nahmen Nahrung ein, verdauten dieselbe gut und ihr Harn war ganz normal.

Wenn sich z. B. in dem Harne einer Ente nach Unterbindung der sämmtlichen zuführenden Lebergefässe in 35 cbcm. Harn 0,48 gr. Milchsäure findet, wie es in dem ersten der oben beschriebenen neuen Versuche von Minkowski der Fall war[1]), wird wohl Niemand der Meinung sein, dass das Blut dieses Thieres 1,33 % Milchsäure enthalten habe; ein solcher Gehalt kann sich im Harne, aber nie im Blute finden.

Die von uns beschriebenen Versuche über die Milchsäureausscheidung im Harne und sonstigen Erkrankungen in Folge von Phosphorvergiftung haben mit aller Entschiedenheit ergeben, dass ein Zusammenhang zwischen Milchsäureaus-

[1]) A. a. O., S. 215 unten.

scheidung im Harne und Lebererkrankung durchaus nicht wahrzunehmen ist, insofern bei starkem Icterus und Fettinfiltration der Leber Milchsäure im Harne bald ganz fehlte, bald mehr oder weniger ausgeschieden wurde. Nur die wechselnde Schwäche der Herzaction, die keine erkennbare Beziehung zur Lebererkrankung zeigt und mehr oder weniger den Blutdruck hinabsinken lässt, kann als Ursache dieser Schwankungen angesehen werden.

Obwohl wir durchaus nicht beabsichtigen, auf die wahrscheinlichen Ursachen und Processe der Harnsäure oder Harnstoffbildung näher einzugehen, können wir doch nicht umhin, soweit in dies Gebiet einzutreten, als es zur Klarlegung der Milchsäurebildung von Interesse zu sein scheint. Die Thiere, welche für meine hier in Betracht kommenden Versuche fast ausschliesslich dienten (Kaninchen, Hunde, Frösche) scheiden Harnsäure entweder gar nicht, oder höchstens in Spuren aus. Wenn hier also die Leber eine Beziehung zu synthetischer Verarbeitung der Milchsäure, die aus anderen Organen (Muskeln) zuströmen soll, besässe, so müssten die Stoffe erst gefunden werden, welche durch solche Synthese entstehen sollten; es ist unseres Wissens nichts derartiges bekannt. Die ganze Harnsäurebildung hat wohl die nächsten Beziehungen zu den Nucleïnbasen, deren grosse Structurähnlichkeit mit der Harnsäure durch die Arbeiten von E. Fischer und die neueren Arbeiten von A. Kossel ausser Frage steht nicht allein bezüglich der 3 verbindenden Kohlenstoffatome, sondern auch in der Bildung von Glycocoll bei der Spaltung mit Salzsäure. Horbaczewski, dem wir mehrere wichtige und glückliche Untersuchungen über die synthetische Bildung der Harnsäure und ihre Entstehung im Organismus verdanken, hat über die Beziehungen derselben zu den Nucleïnbasen sich in gleicher Richtung ausgesprochen. Wenn endlich Minkowski die Bildung der Milchsäure aus Eiweissstoffen als wahrscheinlich hinstellt, so lässt sich hierüber nicht wohl streiten, weil ganz entschieden Kohlehydrat und zwar Glucoseanhydride aus Eiweissstoffen im Organismus gebildet werden können; wenn es aber für unwahrscheinlich erklärt wird, dass Milch-

säure im Organismus aus Kohlehydraten entstehe, so widerspricht dies direct den bestimmten Ergebnissen der oben beschriebenen Versuche und Bestimmungen ebenso wie den Resultaten zahlreicher früherer Untersuchungen an lebenden Organismen und der einfachen Einwirkung der Aetzalkalien. Da dieser Spaltungsprocess zwar bezüglich der Glucose mehrfach untersucht und bestätigt ist, aber noch nicht feststeht, in wieweit auch andere Zuckerarten, welche Fehling'sche Lösung reduciren, bei der Behandlung mit Alkali allein Milchsäure bilden und welche Nebenproducte bei dieser Einwirkung entstehen, sind an die obigen Untersuchungen eine Reihe von Versuchen in dieser Richtung angeschlossen. Wir sehen hier von einer eingehenden Besprechung derselben vorläufig ab, weil wir die sich hier bietenden Wege noch weiter zu verfolgen wünschen.

Die beschriebenen Versuche über die Bildung von Milchsäure und von Glycose in Folge starker Blutverluste haben das unerwartete Resultat ergeben, dass wohl eine mässige Steigerung des Milchsäuregehaltes im Blute, aber keine oder nur ganz geringe Ausscheidung dieser Säure im Harne erfolgt. Die Ursache dieser Erscheinug ist noch nicht klar erkennbar, sie wird in den Nieren zu suchen sein und beeinflusst von den veränderten Circulationsverhältnissen. Auch hier sind weitere Untersuchungen erforderlich. In zwei Fällen zunehmender starker Verminderung des Hämoglobingehaltes im Blute von jungen Personen hat Prof. Hoppe-Seyler aus dem Harne milchsaures Zink gewonnen. Das Zinklactat war schwer zu reinigen, wurde aber theilweise schliesslich krystallisirt und nach der Bestimmung des Zinkgehaltes auch rein erhalten.

Wir sind überzeugt, dass die Untersuchung des Harnes und soweit das thunlich ist, des Blutes von Kranken mit Herzfehlern und anderen Störungen der Circulation, ebenso von schweren Arten von Anämien verschiedenen Ursprungs auf Zucker- und Milchsäuregehalt im Harn und Blut, manche interessanten Beziehungen des Sauerstoffmangels zu allerlei Störungen erkennen lassen wird. Die wenigen Fälle, welche Irisawa zunächst hat untersuchen können, genügen noch nicht

zu einer Orientirung, ergeben aber doch einige Anhaltspunkte. Lange andauernde Krankheiten können mit dem Sauerstoffmangel, welcher zur Ausscheidung von Zucker und Milchsäure verläuft, nicht bestehen, weil der Organismus dabei bald so erschöpft sein wird, dass in kurzer Zeit der Tod erfolgt; Zucker und Milchsäure verschwinden auch aus dem Harne, wenn Glycogen nicht mehr vorhanden ist. Leider gibt es kein anderes Mittel, die Anwesenheit der Milchsäure zu erkennen und ihre Quantität zu bestimmen, als die Darstellung des Zink- oder Kalksalzes, die Bestimmung der Sättigungscapacität der Säure und die von uns sehr zuverlässig befundene Spaltung im zugeschmolzenen Glasrohre bei 140—150° mit verdünnter Schwefelsäure in Aldehyd und Ameisensäure. Die Rotation des polarisirten Lichtes ist entweder gar nicht vorhanden oder so schwach, dass man sie nicht zur sicheren Unterscheidung benutzen kann. Die in alter Zeit viel benützte und neuerdings wieder angewendete mikroskopische Untersuchung der Krystallform des milchsauren Zinks hat einen sehr geringen Werth für die Erkennung, weil diese Krystallform ausserordentlich häufig ist und den verschiedensten andern Stoffen auch zukommt; diese Untersuchung kann für sich allein nicht als genügend zum Nachweis der An- oder Abwesenheit von Milchsäure gelten.

Auf die zum Theil gegen unsere Angaben gerichtete Arbeit von Heffter[1]) einzugehen, hat allein insofern Werth, als wir constatiren müssen, dass die wesentlichen Differenzen auf Missverständnissen beruhen, für die wir wohl nicht verantwortlich sind. Die Unrichtigkeit der Angaben von Böhm bezüglich der Unveränderlichkeit des Glycogens bei der Todtenstarre der Muskeln ist sicher festgestellt, die Mängel seiner Methode der Bestimmung der Milchsäure vor langer Zeit klar gelegt, von mir durch Versuche bewiesen[2]). Mit Recht hat sie Heffter nicht angewendet. Dass zerschnittener und zerriebener Säugethiermuskel bei dieser Behandlung gereizt ist und sich contrahirt hat und, soweit er nicht bereits getödtet

---

[1]) Heffter, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmacol., Bd. 31, S. 225, 1893.

[2]) Araki, Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. 15, S. 336.

ist, bei dieser Behandlung durch Extraction mit Wasser oder Alkohol abstirbt und dann nur die Bestandtheile des todten Muskels liefern kann, darf auch nicht bezweifelt werden, ebensowenig dass bei dieser Behandlung Glycogen zersetzt, Zucker- und Milchsäure gebildet werden. Dass ferner bei der Vergiftung eines gutgenährten Thieres mit Kohlenoxyd Zucker und Milchsäure gebildet werden und zwar unter Zersetzung von Glycogen, entspricht unserer Auffassung und den Ergebnissen der obigen Versuche. Dass nachher aus dem Muskel weniger Milchsäure erhalten wird als ohne die Kohlenoxydvergiftung, ist hiermit in guter Uebereinstimmung. Blut und Harn des Thieres, welche die weggeführten Zucker und Milchsäure enthalten müssen, hat Heffter nicht untersucht. Unsere Angaben sind mit diesem Befunde und im Uebrigen mit den Resultaten von J. Ranke, Astachewsky, Külz, Marcuse, Werther u. A. in guter Uebereinstimmung, und die Differenzen mit Heffter beruhen im Wesentlichen eben auf Missverständnissen. Die von Prof. Hoppe-Seyler ausgesprochenen Folgerungen in Betreff der Nichtbildung von Milchsäure in den Muskeln bei ihrer Thätigkeit, so lange gute, ausreichende Sauerstoffzufuhr stattfindet, sind in seiner eigenen Darlegung vorläufig erörtert, von Heffter in keiner Weise erschüttert. Weitere Untersuchungen von uns in Betreff dieser wichtigsten Frage, sowie einiger anderen angrenzenden Aufgaben sind begonnen, aber noch nicht zu Ende geführt. Ausführliche Mittheilung über dieselben bleibt vorbehalten.

Bemerkungen zur vorstehenden IV. Mittheilung von Herrn T. Araki über die Wirkungen des Sauerstoffmangels.

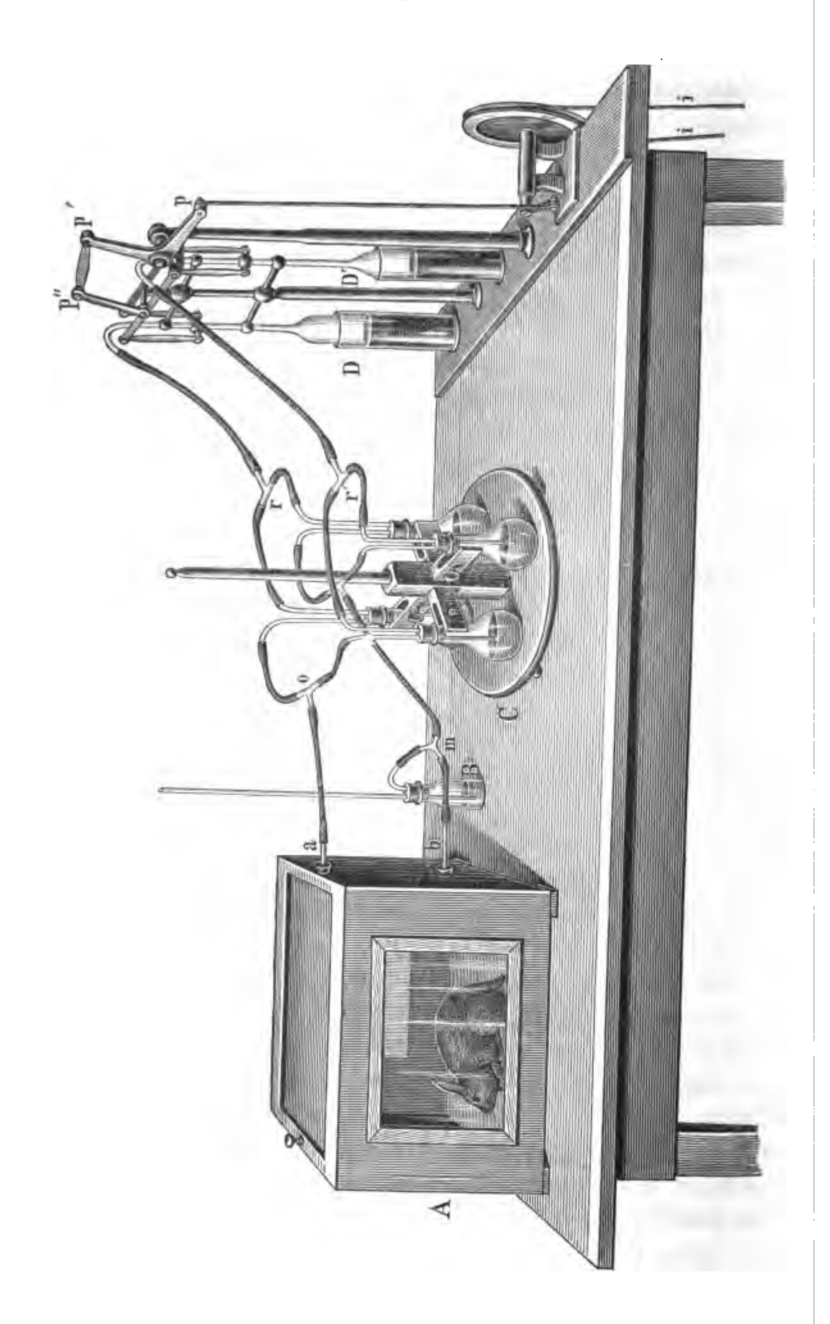
Von

F. Hoppe-Seyler.

In seinen früheren Mittheilungen über die Ausscheidung von Milchsäure und Glycose im Harne gesunder, gut genährter Thiere hat Herr Araki die Einwirkung verschiedenartiger Stoffe beschrieben, welche in dieser Hinsicht übereinstimmen. Bei seinen jetzigen Untersuchungen über die Beziehungen dieser Ausscheidungen der Nieren zum Glycogengehalt der Leber und der Muskeln, sowie zum Alkaligehalte des Blutes dieser Thiere und zur Aenderung der Reaction des Harnes hat Herr Araki zur Herstellung des Sauerstoffmangels sich auf die Anwendung der Vergiftung mit Kohlenoxyd, oder mit Amylnitrit oder endlich der Athmung der Thiere in sauerstoffarmer Luft beschränkt. Diese Auswahl erscheint gewiss gerechtfertigt, weil bei den letztgenannten Einwirkungen jeder Zweifel an dem wirklich vorhandenen Sauerstoffmangel ausgeschlossen war und die Ausführung der Versuche keine erhebliche Schwierigkeiten darbot, auch die Versuchsthiere keinen Qualen ausgesetzt zu werden brauchten. Die Einwirkung starker Abkühlung oder der Vergiftung mit Strychnin, welche gleichfalls reichliche Ausscheidung von Glycose und Milchsäure bewirken, sind nicht so entschieden beweisend, weil das Zustandekommen des Sauerstoffmangels complicirter erscheint, auch sind diese Versuche für die Thiere quälend.

Unter den obengenannten 3 Einwirkungsarten dürfte die Anwendung der sauerstoffarmen Luft als das Verfahren angesehen werden, welches die sichersten Resultate liefert, weil die Thiere in diesen Versuchen im Uebrigen sich unter ganz normalen Verhältnissen befanden, insbesondere auch ein erhöhter CO_2-Gehalt in der eingeathmeten Luft ganz ausgeschlossen war. Für diese Versuche hat sich Herr Araki eines Apparates bedient, den ich bereits vor längerer Zeit für zahlreiche Versuche anderer Art, besonders aber zur Auffindung der Grenze des Sauerstoffdruckes in der Luft, unter welcher das Leben der warmblutigen Thiere nicht mehr bestehen kann, benutzt habe. Auch von Stroganow ist in seinen vor langer Zeit im physiologisch-chemischen Institute angestellten Untersuchungen eine sehr ähnliche Apparatanordnung verwendet.

Der von Herrn Araki benutzte Apparat ist im beigefügten Holzschnitte abgebildet. Er besteht aus einem ziemlich luftdichten Kasten A, dessen Deckel als Schieber geöffnet werden kann; in diesem Behälter befindet sich das Versuchsthier. An Stelle des Kastens A kann eine auf abgeschliffener Glasplatte luftdicht aufgesetzte tubulirte Glasglocke verwendet werden. B ist ein theilweise mit Wasser gefülltes Fläschchen, C ein Stativ mit 4 mit Kalilauge von 1,27 spec. Gew. theilweise gefüllten Waschflaschen. D und D′ sind unten offene, oben in engere Röhren verlängerte Glascylinder, welche durch einen kleinen Wassermotor (von Schmid, Zürich) mittelst Transmissionen i, i, p p′ p″ in den Quecksilberbehältern auf und ab bewegt als Pumpen wirken, deren Ventile die mit Kalilauge gefüllten Waschflaschen in C darstellen. Die aus dem Thierbehälter A oben durch a austretende Luft geht durch das T-Röhrchen o, je nachdem D oder D′ sich gerade aufwärts bewegt, in die eine oder die andere der beiden angefügten Waschflaschen, gelangt durch die Kalilauge streichend in den im Quecksilber aufsteigenden Glascylinder und wird, wenn derselbe wieder abwärts sich bewegt, durch das Röhrchen r (aus D) oder durch r′ (aus D′) wieder durch Kalilauge getrieben durch m in die kleine Flasche B und von dort


A
a
b
B
m
o
C
r
r'
D
D'
p
p'
p''

durch b in den Thierbehälter A eingeleitet. Bei dem Auf- und Abgehen von D und D' wird also von a her abwechselnd Luft nach beiden Cylindern angesaugt und dann wieder nach b zurückgepresst; indem dabei die Luft bei der Hin- und Rückbewegung der Cylinder D und D' jedesmal durch Kalilauge streichen muss, strömt gleichzeitig ein ebenso grosses Luftvolumen von A her in die Cylinder ein, als aus denselben nach dem Behälter A zurückkehrt.

Durch den Stopfen der kleinen Flasche B ist ein oben und unten offenes, senkrechtes Glasrohr so tief eingesteckt, dass das untere Ende unter dem Wasserniveau steht. Das T-Röhrchen m communicirt mit dem Luftraum in B. Da die von dem Thier ausgeathmete CO_2 durch die Kalilauge absorbirt wird, erleidet das im Behälter und Röhrensysteme des Apparates abgeschlossene Luftvolumen bei gleichbleibender Temperatur und unverändertem Barometerstand eine Aenderung nur entsprechender Aufnahme von Sauerstoff aus der inspirirten Luft im lebenden Thiere. Entsprechend dieser Druckabnahme strömt durch das offene senkrechte Rohr und das Sperrwasser in B atm. Luft von aussen ein, so dass bei dem Ersatz des verschwindenden Sauerstoffs durch atm. Luft im Athemraum des Thieres der Sauerstoffprocentgehalt weiter und weiter abnimmt.

Will man dann bei einem bestimmten Gehalte an O_2 dieser abgeschlossenen Luft diesen Gehalt für längere Zeit fixiren, so verbindet man, sobald dieser Gehalt hergestellt ist, das obere Ende des senkrechten offenen Glasrohres in B mit einem Sauerstoffgasometer unter Atmosphärendruck, so dass von da ab der durch die Athmung des Thieres aufgenommenen Sauerstoff durch Sauerstoff aus dem Gasometer ersetzt wird.

Das Verhalten des Thieres lässt nun recht wohl erkennen, ob bereits ein erheblicher Sauerstoffmangel eingetreten ist. Es ist durchaus nicht starke Dyspnö, welche denselben kennzeichnet, sondern zunehmende Mattigkeit und Unfähigkeit sich aufrecht zu erhalten, Hinabsinken des Kopfes u. s. w.

In mehreren neueren Arbeiten und besonders im neuen Lehrbuch der Pathologie des Stoffwechsels von v. Noorden,

Berlin 1893, wird auf Fälle von bedeutender Dispnö und hochgradiger Circulationsstörungen hingewiesen, in welchen Glycose und Milchsäure im Urin vergeblich gesucht wurden. Dieser Befund entspricht unsern Beobachtungen an Thieren, welche entweder durch fieberhafte Krankheiten geschwächt waren oder im vorgerückten Hungerzustand sich befanden. Es ist ausserdem wohl zu beachten, dass bei Thieren, die gesund und gut genährt sind, ein vorgerückter Zustand des Sauerstoffmangels nicht durch Dyspnö angegeben wird, sondern durch Lähmungen der Motilität, der Sensibilität und Verlust des Bewusstseins, wie dies am Besten geschildert ist in dem Berichte von Tissandier über die Ballonfahrt, bei welcher Sivel und Crocé-Spinelli das Leben verloren im Jahre 1875 am 15. April. Dieselben allgemeinen Erscheinungen zeigt der Sauerstoffmangel durch starke Temperaturerniedrigung, durch Vergiftung mit CO oder Amylnitrit.

Weitere Mittheilungen über das Zustandekommen der Oxydationen in den Muskeln bei ihren Contractionen hoffe ich, bald bringen zu können. Man hat sich so sehr an die Annahme gewöhnt, dass unter normalen Verhältnissen in den thätigen Muskeln Milchsäure gebildet werde, dieselbe in das Blut übertrete und nun in anderen Organen irgend wie verarbeitet werde, dass man sogar hier und da der Ansicht begegnet, als sei ein solcher Vorgang experimental erwiesen. Es wird dabei völlig übersehen, dass diese Meinung den bekannten feststehenden Thatsachen durchaus widerspricht. Die mit der Thätigkeit der Muskeln ausserordentlich stark gesteigerte Ausscheidung von CO_2 und Aufnahme von Sauerstoff wird wohl von keiner Seite mehr bestritten; die mit dieser Thätigkeit Hand in Hand gehende Kohlehydratzersetzung ist durch die besten neueren und neuesten Arbeiten völlig bestätigt. Man muss also zugeben, dass, wenn sich hierbei intermediär Milchsäure bildet, diese irgendwo zu CO_2 und H_2O umgesetzt werden muss. An den Orten aber, wo diese Oxydation stattfindet, muss diesen chemischen Processen äquivalente Anhäufung von Spannung oder Steigerung von Bewegung, Wärmeentwickelung u. dergl. eintreten. Man hat nun

diese starke Wärmeentwickelung auch bei der Muskelthätigkeit gefunden, aber weder in der Leber (welche überhaupt in dieser Frage gar nicht in Betracht kommen kann, weil sie das sauerstoffärmste Organ ist), noch in den Nieren (hier wenigstens nur in geringerem Maasse), sondern ausserordentlich stark in den Muskeln. Die Versuche von Leyden, von Fick und Billroth, von Meade-Smith haben Resultate ergeben von so bedeutender Wärmeentwickelung in den Muskeln bei ihrer Reizung (Tetanisirung) im lebenden Thiere mit ungestörter Circulation, dass durch die Temparaturerhöhung der Tod der Thiere zu drohen scheint. Wie man nun diese Thatsachen in Einklang bringen will mit der Ansicht, in den Muskeln bilde sich Milchsäure, und diese werde in anderen Organen in der einen oder anderen Weise chemisch verändert, kann ich nicht einsehen, es sei denn, man wolle dies nur annehmen bezüglich einer geringfügigen Quantität eines Nebenproductes der Umsetzung des Kohlehydrats, wie ja auch bei der Oxydation des Zuckers durch alkalische Kupferoxydlösung unter den günstigsten Verhältnissen immer noch Spuren von Milchsäure gefunden werden können.

Die angestellten Versuche, von der Anwendung eines partiellen Sauerstoffmangels her zur Erkennung des normalen Spaltungs- und Oxydationsvorgangs vorzudringen, sind bis jetzt von geringem Erfolge gewesen.

Ueber das Vorkommen von Fleischmilchsäure in pathologischen Harnen.

Von

Dr. **Emil Schütz.**

(Aus dem medicinisch-chemischen Institute der k. k. deutschen Universität in Prag.)

(Der Redaction zugegangen am 23. April 1894.)

Durch die bekannten Thierexperimente Minkowski's[1]), sowie durch neuere Untersuchungen, welche Araki[2]) und Zillessen[3]) angestellt haben, ist das Auftreten von Milchsäure im Harn einerseits als Folge des Ausfalls der Leberfunction, andererseits als Folge des Sauerstoffmangels festgestellt worden.

Die Ergebnisse dieser Versuche legten es nahe, zu prüfen, ob nicht auch beim Menschen analoge Vorgänge das Auftreten dieser Säure im Harn begünstigen.

Nach dieser Richtung hat bereits Araki Untersuchungen angestellt; er fand Milchsäure bei Epileptikern in dem bald nach dem Anfall entleerten Harn. Den gleichen Befund konnte Irisawa[4]) unter 7 Fällen 3 Mal bei Harnen constatiren, welche kurz vor dem Eintritt des Todes im Stadium der Agonie gelassen wurden. Es muss endlich auch auf die seit Langem bekannten Befunde von Milchsäure im Harn bei Phosphor-

---

[1]) Minkowski, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmak., Bd. 21, S. 41, und Bd. 31, S. 214.

[2]) Araki, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 15, S. 335.

[3]) Zillessen, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 15, S. 387.

[4]) Irisawa, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 17, S. 340.

vergiftung und acuter Leberatrophie (Schultzen und Riess) hingewiesen werden.

In diesen Fällen ist die Gegenwart der Milchsäure durch einwandfreie Methoden erwiesen worden. Ausserdem liegt aber noch eine erhebliche Zahl von Beobachtungen am Menschen bei verschiedenartigen Krankheitsprocessen vor, in welchen entweder ohne alle Beweise oder mit Berufung auf die krystallinische Beschaffenheit des erhaltenen Zinksalzes die Behauptung aufgestellt wird, es sei Milchsäure aufgefunden worden. Man weiss aber aus vielfachen Erfahrungen, dass ein so geführter Nachweis durchaus ungenügend ist. Das Urtheil darüber, ob hier wirklich Milchsäure zugegen war, muss deshalb in der Schwebe bleiben.

Bei der spärlichen Anzahl sicher gestellter Thatsachen über das Vorkommen von Milchsäure im Menschenharn erschienen weitere Untersuchungen nicht überflüssig.

Wenn in einem Harn die Milchsäure zu Grammen enthalten ist, so bietet der Nachweis derselben keine Schwierigkeit. So günstige Verhältnisse brauchen aber nicht immer einzutreffen, und man muss darauf gefasst sein, dass in einem Harn die Milchsäure nur in geringen Mengen vorkommt.

Auch diese noch auffinden zu können, muss erwünscht sein.

Um dies zu ermöglichen, habe ich nach dem Vorschlag des Herrn Prof. Huppert die Thatsache benützt, dass fleischmilchsaures Zink aus alkoholischer Lösung durch Aether sehr vollständig gefällt wird. Der anfänglich gelatinöse Niederschlag verwandelt sich beim Verweilen in der Flüssigkeit in schöne Krystalldrusen.

Zur Prüfung des Verfahrens habe ich Harn eine bestimmte geringe Menge milchsauren Zinks zugesetzt und ermittelt, wie viel sich von diesem wieder gewinnen liess.

Der Harn wurde entweder direct eingedampft oder vorher mit neutralem essigsauren Blei ausgefällt und das Filtrat mit Schwefelwasserstoff behandelt. Sodann wurde der syrupöse Abdampfungsrückstand wiederholt mit Alkohol ausgekocht, der Auszug nach dem Erkalten filtrirt und die Lösung vom Alkohol befreit. Der Rückstand wurde dann nach Zusatz von viel Phosphorsäure in dem Apparat von Schwarz durch 24 Stunden mit Aether extrahirt. Eine längere Extraction erschien nach

wiederholten Versuchen überflüssig. Im Recipienten sammelte sich unter dem Aether eine dunkelbraune ölige Flüssigkeit an; von dieser wurde die ätherische Lösung abgehoben, der Aether verdunstet, der Rückstand in Wasser gelöst und die Lösung mit überschüssigem kohlensauren Zink gekocht, abfiltrirt, das rückständige Zinkcarbonat mit heissem Wasser ausgewaschen. Das gesammte Filtrat wurde hierauf stark eingeengt mit 96 proc. Alkohol versetzt, von einem geringen Niederschlag abfiltrirt, und mit Aether versetzt, so lange sich noch ein Niederschlag bildete, und die Mischung sodann bis zum Auftreten von Krystallen stehen gelassen; zur weiteren Reinigung wurden die Krystalle in Wasser gelöst, und das obige Verfahren (Fällen der alkoholischen Lösung mit Aether) so lange wiederholt, bis sich die Krystalle ohne Hinterlassung eines Rückstandes in Wasser lösten; das aus dieser letzten Lösung krystallisirende Salz wurde dann gewogen und analysirt.

Zu ungefähr 1 Liter Harn wurde jedesmal 0,5 gr. fleischmilchsaures Zink zugesetzt; nach dem beschriebenen Verfahren wurde wiedergefunden bei directer Verarbeitung des Harns (ohne Bleifällung): 0,2814 gr. = 56 %.

	Gefunden:	Berechnet:
H_2O	12,27 %	12,90 %.
	Im entwässerten Salz:	
Zn	25,73 %	26,75 %.

Nach Bleifällung wiedergefunden: 0,1765 gr. = 35 %.

	Gefunden:	Berechnet:
H_2O	12,62 %	12,90 %.
	Im wasserfreien Salz:	
Zn	26,88 %	26,75 %.

Bei der Bleifällung geht also erheblich mehr Substanz verloren, als ohne dieselbe. Aus diesem Grunde wurde in nachfolgenden Untersuchungen pathologischer Harne die Fällung mit Bleizucker unterlassen.

Während aber bei der Wiedergewinnung der dem Harn zugesetzten Säure das milchsaure Zink leicht zur Krystallisation zu bringen und der Verbrauch von Aether ein mässig grosser war, gestalteten sich die Verhältnisse bei der Untersuchung der pathologischen Harne weit ungünstiger. In einer grossen Anzahl von Fällen wurde auf Zusatz von Aether ein amorpher oder syrupöser Niederschlag erhalten, aus welchem nur durch sehr oft wiederholtes Umkrystallisiren eine spärliche

Menge Krystalle dargestellt werden konnte. Auch brauchte das milchsaure Zink zur Fällung aus der alkoholischen Lösung viel weniger Aether als das Zinksalz aus den pathologischen Harnen.

Zur Untersuchung gelangten im Ganzen die Harne von 30 Individuen, welche den Kliniken der Herren Professoren v. Jaksch und Knoll[1]) angehörten; in jedem dieser Fälle wurden 3 aufeinanderfolgende Tagesportionen Harn gesammelt, und diese nur in unzersetztem Zustand verarbeitet.

Unter diesen 30 Krankheitsfällen befanden sich 6 Fälle von vorgeschrittener Lebererkrankung (darunter 4 Fälle von carcinomatösen Metastasen, 2 von chronisch interstitieller Hepatitis), 2 Fälle von Herzfehlern, 2 von vorgeschrittener Lungentuberculose (diese 4 mit hochgradiger Dyspnöe), 2 Fälle von croupöser Pneumonie (im Lösungsstadium), 2 von chronischer Peritonitis (die letzteren 4 Fälle mit reichlicher Peptonurie einhergehend), 9 Fälle von Magencarcinom, 2 von carcinomatöser Oesophagusstenose, 2 Fälle von Leukämie, 1 Fall von perniciöser Anämie, 1 Fall von hochgradiger Anämie nach vorausgegangenen Blutungen und 1 Fall von Inanition durch toxische Gastritis.

Das Ergebniss dieser Untersuchungen war, dass in keinem der Fälle, trotz der relativ guten Methode, Fleischmilchsäure nachgewiesen werden konnte. Wohl traten häufig schon nach dem Kochen des Aetherextracts mit Zinkcarbonat im Filtrat bei Einengung desselben Krystalldrusen auf, die bei mikroskopischer Betrachtung die Form gewimperter Kugeln besassen und desshalb leicht für Krystalle von milchsaurem Zink hätten gehalten werden können; allein beim Umkrystallisiren nahmen sie die Gestalt von dünnen, schwach perlmutterglänzenden Plättchen an. Wäre milchsaures Zink vorhanden gewesen, so hätte sich dieses wegen seiner so geringen Löslichkeit in Aether-Alkohol unbedingt abscheiden müssen, es kann also milchsaures Zink beim Umkrystallisiren

---

[1]) Beiden genannten Herren bin ich für die Ueberlassung des Untersuchungsmaterials zu grösstem Danke verpflichtet.

nicht verloren gegangen sein. Dass die Krystalle nicht milchsaures Zink waren, ergab ferner die Analyse derselben.

Alle Krystallisationen besassen die geschilderte Form, so dass sie wohl als identisch angesehen werden dürften. Die aus 6 verschiedenen Harnen erhaltenen Krystalle wurden analysirt und gaben:

H_2O[1]	17,08	15,39	15,66	13,87	18,83	16,27.	Mittel 16,16 %.
Zn	16,85	16,92	17,01	17,18	17,49	17,59.	» 17,17 »

fleischmilchsaures Zink verlangt 12,90 % H_2O und 26,75 % Zn.

Für die vorliegende Frage ist es gleichgiltig, woraus das erhaltene Zinksalz bestanden habe; doch gaben die weiteren Eigenschaften desselben hiezu einige Anhaltspunkte. Die farblosen Plättchen werden beim Aufbewahren an der Luft schwach gelblich; sie lösen sich schwer in kaltem Wasser, leicht in heissem, ziemlich schwer in Alkohol; sie verlieren ihr Krystallwasser schon vollständig über Schwefelsäure. Salzsäure scheidet aus dem Salz lange dünne, in Aether lösliche, Prismen ab. Eine selbst verdünnte Lösung des Zinksalzes oder der Säure selbst gibt eine deutliche Millon'sche Reaction; mit Eisenchlorid färbt sich die Lösung des Salzes oder der Säure schmutzig violett. Eine nicht analysirte Probe erwies sich als stickstoffhaltig.

Dieser Befund rechtfertigt die Annahme, dass das Salz der Hauptmenge nach oxyphenylessigsaures Zink, oder ein Gemenge von diesem Salz und oxyphenylpropionsaurem gewesen sei, eine gelegentliche Beimengung von Hippursäure ist dabei nicht ausgeschlossen. Im Mittel wurden in dem Salz 16,16% H_2O und 17,17% Zn gefunden, während oxyphenylessigsaures Zink $(C_8H_7O_3)_2$ Zn + $4H_2O$ 16,40% H_2O und 17,71 % Zn verlangt. Das oxyphenylpropionsaure Zink $(C_9H_9O_3)_2$ Zn, nach Baumann mit $2H_2O$, enthält 8,35%, mit $4H_2O$ 15,42% H_2O, und 16,46 Zn. Das hippursaure Zink enthält 15,44% Zn. $4H_2O$ würde 14,65 H_2O, 5 H_2O 17,6 % H_2O entsprechen.

Da es mir nur darauf ankam, zu wissen, ob das erhaltene Zinksalz fleischmilchsaures gewesen ist, habe ich mich nicht

---

[1]) Die Schwankungen im Wassergehalt erklären sich daraus, dass die Krystalle schon über Schwefelsäure ihr Krystallwasser abgeben.

veranlasst gesehen, völlig sicher zu stellen, woraus es bestand. Mit der Annahme aber, dass es sich hauptsächlich um eine der Oxysäuren des normalen Menschenharns oder um ein Gemenge beider gehandelt hat, stimmt im Allgemeinen überein, dass ich die Säure reichlicher in Harnen fand, in denen jene auch sonst nach anderer Methode reichlich angetroffen werden.

Ich fand die Säure unter 9 Fällen von Magencarcinom 4 Mal, unter 4 Fällen von carcinomatöser Entartung der Leber 4 Mal, unter 2 Fällen von chronisch interstitieller Hepatitis 2 Mal, unter 2 Fällen von Oesophagus carcinom 1 Mal, unter 2 Fällen von Leukämie 1 Mal, unter 2 Fällen von Herzfehler 1 Mal, unter 2 Fällen von Pneumonie (im Lösungsstadium) 1 Mal, endlich in einem Fall von toxischer Magenentzündung.

Aus dieser Untersuchung ergibt sich zum Ueberfluss abermals die Lehre, dass man nicht jedes Zinksalz aus Harn, auch wenn es äusserlich dem fleischmilchsauren ähnlich ist, auf die blosse Krystallform hin für fleischmilchsaures erklären darf; zum sichern Nachweis ist die Analyse unerlässlich.

Ueber die Bestimmung des Lecithingehaltes der Pflanzenbestandtheile.

Von

Dr. Béla v. Bittó.

(Der ungar. Akademie der Wissenschaften vorgelegt in der Sitzung am 23. April.)
(Der Redaction zugegangen am 27. April 1894.)

Die ersten Versuche der Bestimmung des Lecithingehaltes der Pflanzensamen wurden mit Hilfe der Aetherextraction in der Weise ausgeführt, dass aus dem Phosphorsäuregehalt des Aetherextractes die Lecithinmenge berechnet wurde. Später erfuhr diese Methode von Jacobson[1]) eine Modification, indem er die Samen mit Alkohol extrahirte, den alkoholischen Extract aber mit Aether auszog, und in diesem die Phosphorsäure, respective das Lecithin bestimmte. Die Phosphorsäurebestimmung selbst wurde in folgender Weise ausgeführt: nach Zusammenschmelzen des Extractes mit einem Gemisch von Soda und Salpeter und Lösen der Schmelze in Wasser, sowie nach dem Ansäuern und Kochen mit Salpetersäure wurde die Phosphorsäure mit molybdänsaurem Ammon gefällt. Der erhaltene Niederschlag aber wurde, wie gewöhnlich, in Ammoniak gelöst, und die Lösung mit Magnesiamixtur versetzt. Die abgewogene Menge des pyrophosphorsauren Magnesia, mul-

[1]) Ueber Pflanzenfette, Inaug.-Dissert. Königsberg, s. Zeitschrift f. physiol. Chemie, Bd. XIII, S. 38.

tiplicirt mit dem Factor 7,2703, gibt die anwesende Lecithinmenge.

Die resultirenden Werthe zeigten aber von solchen, durch andere Forscher gefundenen, bedeutende Abweichungen; was Jacobson anfangs zu der Annahme bewog, seine Zahlen seien nur desshalb so hoch, weil mit dem Lecithin auch andere, zum Theil vielleicht nucleïnartige Verbindungen extrahirt und als Lecithin mit in Rechnung gestellt werden. Später machte Schulze und Steiger darauf aufmerksam[1]) dass im Extract und in den Pflanzen bis nun andere phosphorhaltige Bestandtheile nicht nachgewiesen werden konnten, abgesehen natürlich von den phosphorsauren Salzen, welche bekanntlich weder in Alkohol noch in Aether löslich sind. Ferner wissen wir aus ihren Untersuchungen, dass bei der Aetherextraction ein Theil des Lecithins ungelöst bleibt, und nur dann leichter in Lösung geht, wenn es schon früher mittelst Alkohol aus den Samen extrahirt wurde. Bei dem Umstande, dass weder im alkoholischen, noch im ätherischen Extracte der Pflanzen, eine andere phosphorhaltige organische Verbindung als Lecithin in nennenswerther Menge bisher nicht nachgewiesen werden kann, weiter, dass die phosphorsauren Salze weder mit Alkohol, noch mit Aether in Lösung gehen, erschien es zweifellos, dass die von Jacobson empfohlene Methode zur Bestimmung des Lecithingehaltes der Pflanzensamen noch vereinfacht werden kann, u. z. derart, dass man die Substanz nach der Erschöpfung mit Aether noch zweimal je eine Stunde lang mit Alkohol auskocht, und die sodann vereinigten Extracte zur Bestimmung des Phosphors (richtiger der Phosphorsäure) verwendet[2]). Nach Schulze und Steiger's[3]) Untersuchungen hat sich auch diese Methode bewährt, da sie derart zu den-

---

[1]) E. Schulze und E. Steiger: Ueber den Lecithingehalt d. Pflanzensamen, Zeitschr. f. phys. Chemie, Bd. XIII, S. 365.

[2]) Näheres hierüber ist in Schulze und Steiger's oben citirter Abhandlung, sowie in einer neuestens von Schulze und Frankfurt in den «landw. Versuchstationen» erschienenen Arbeit: «Ueber den Lecithingehalt einiger vegetabilischer Substanzen», Bd. XLIII, S. 307, zu finden.

[3]) Siehe die öfters citirte Abhandlung von Schulze u. Steiger.

selben Zahlen gelangen, als wie bei der Aetherextraction, sowie der abermaligen Behandlung des erhaltenen alkoholischen Auszuges mit Aether[1]).

Bei den jüngst durch mich, nach Schulze und Steiger ausgeführten Lecithinbestimmungen bekam ich öfters derart niedrige Werthe, dass ich trotz der von genannten Forschern erwähnten Argumente die Brauchbarkeit der Methode in Zweifel zu ziehen genöthigt war, worin mich noch jene Erfahrung bestärkte, welche ich bei physiologischen Untersuchungen zu machen Gelegenheit hatte, und die darin gipfelt, dass das Lecithin auch mit Alkohol erst durch wiederholtes, längere Zeit andauerndes Kochen extrahirt werden kann; während Schulze und Steiger zweimaliges, je eine Stunde andauerndes Auskochen dafür schon als genügend erachten, um den in Aether nicht aufgenommenen Theil des Lecithins völlig in Lösung zu bringen.

Um die Richtigkeit meiner Auffassung, sowie die Berechtigung meiner Zweifel beweisen zu können, bestimmte ich in einigen Pflanzensamen den Lecithingehalt nach Schulze und Steiger und versuchte dann, wie viel Lecithin erhalten wird, wenn dieselbe Substanz nach der Aetherextraction noch 10, 24 und 30 Mal mit Alkohol extrahirt wird. Schon beim ersten Versuche, welcher mit Samen von Capsicum annuum angestellt wurde, zeigte sich, dass die öfters erwähnte Methode nur annähernd übereinstimmende Werthe giebt; ähnliches fand ich auch bei anderen Samen. So erhielt ich z. B. aus dem Samen von Capsicum annuum auf Trockensubstanz berechnet bei genauer Befolgung der Angaben von Schulze und Steiger 0,435 % Lecithin; während durch Aetherextraction und hierauf folgendes 10maliges Auskochen mit Alkohol sich diese Zahl auf 0,926 % nach 24maligem Aus-

[1]) Diese Methode wandten sie eben nur so lange an, als bis sie sich davon überzeugten, dass auf diese Weise andere phosphorhaltige Verbindungen nicht extrahirt werden, was auch noch dadurch bekräftigt wurde, dass bei der Anwendung beider Methoden gleiche Werthe resultirten.

kochen (selbstverständlich unter genau denselben Bedingungen) auf 1,391 % und nach dreissigmaligen auf 1,545 % steigerte.

Bemerken will ich, dass nach dreissigmaligen Auskochen keine Phosphorsäurereaction mehr erhalten werden konnte.[1]) Um die in den Samen von Capsicum annuum enthaltenen circa 1½ % betragende Menge Lecithins völlig extrahiren zu können, war es also nöthig, die Auskochung mittelst Alkohol dreissigmal zu wiederholen. Auch dürfte es interessant sein zu erwähnen, dass der Lecithingehalt der trockenen Capsicumsamen, bloss aus dem ätherischen Auszuge bestimmt 0,043 % beträgt; wir finden demnach auch hier eine Bestätigung der Erfahrung Jacobson's, wodurch mit Aether nur ein Theil des Lecithins extrahirt werden kann, während sich die übrige Menge erst bei der weiteren Behandlung abspaltet.

Bevor ich jedoch meine früher erwähnten Erfahrungen, die ich bei der Bestimmung des Lecithingehaltes einiger Pflanzensamen gemacht, benutzt hätte, stellte ich auch noch in der Richtung einige Versuche an, den als Extractionsmittel angewendeten Aethylalkohol durch ein besseres Lösungsmittel zu ersetzen. Nach einigen Versuchen, die von negativem Resultate begleitet waren, wandte ich mich dem Methylalkohol zu und fand, dass dieses als das beste Lösungsmittel des Lecithins zu betrachten ist, indem Methylalkohol unter gleichen Temperaturverhältnissen, in gleichen Zeiträumen beinahe die doppelte Menge Lecithin zu lösen im Stande ist, als Aethylalkohol. Ich bemerke noch, dass ich den zur Extraction dienenden Methylalkohol durch fractionirte Destillation des Rohproductes darstellte und die zwischen 60—70° übergehende Fraction benutzte. Es erschien als wünschenswerth, vergleichsweise den Lecithingehalt der Pflanzensamen mit Anwendung beider Lösungsmittel zu bestimmen, u. z. so, dass aus ein und demselben Samenmuster stammende Proben, die natürlich immer sehr fein gemahlen sein müssen, mit Aether und hierauf 10, 24 und 30 Mal mit Aethylalkohol

[1]) Nach meinen Erfahrungen genügt es, wenn das einmalige Auskochen mit Alkohol 8—10 Minuten lang und keinesfalls länger als eine Viertelstunde dauert.

und ebenso vorbereitete Proben 10- und 20 mal mit Methylalkohol ausgekocht wurden. Das dreissigmalige Auskochen mit Aethylalkohol, sowie das zwanzigmalige mit Methylalkohol nahm ich als Grenzwerthe an, da überdieses hieraus keine wägbaren Phosphorsäuremengen erhalten werden konnten.

Es sei hier ausdrücklich betont, dass es nöthig war, für jede Bestimmung, beziehungsweise Extraction, eine besondere Probe zu nehmen, da, wie ich öfters wahrnahm, die erhaltenen Resultate in dem Falle immer kleiner ausfielen, als bei directer Bestimmung, wenn die z. B. bereits vierundzwanzigmal mit Aether und Alkohol extrahirten Samen noch sechsmal mit Alkohol extrahirt wurden, und letztere Zahl zur früheren bei der Extraction mit Aether und vierundzwanzigmaligen Auskochen mit Alkohol erhaltenen addirt wurde. Die so erhaltenen Phosphor-, beziehungsweise Lecithinmengen habe ich auf 100 Gew.-Theile Trockensubstanz berechnet in folgenden Tabellen zusammengestellt[1]); zur Orientirung sind noch die diesbezüglichen, von Schulze und Steiger erhaltenen Werthe beigefügt:

Phosphorgehalt in 100 Gew.-Theilen Trockensubstanz.

Samen von	Nach der Extraction mit Aether mit Aethylalkohol ausgekocht:			Nach der Extraction mit Aether mit Methylalkohol ausgekocht:		Phosphorgehalt nach Schulze und Steiger.
	10 mal.	24 mal.	30 mal.	10 mal.	20 mal.	
Capsicum annuum (Paprika)	0,0356	0,0529	0,0588	0,0653	0,0712	—
Vicia sativa (Wicke)	0,0497	0,0559	0,0622	0,0590	0,0684	0,0468
Lupinus luteus (gelbe Lupine)	0,0619	0,0680	0,0742	0,0742	0,0804	0,0603
Soja hispida (Sojabohne)	0,0600	0,0660	0,0750	0,0720	0,0780	0,0629
Weizen	—	—	—	—	0,0190	0,0249
Roggen	—	—	—	—	0,0256	0,0218
Gerste	-	—	—	—	0,0259	0,0284
Gelber Mais	—	—	—	—	0,0185	0,0095

[1]) Da es sich bei den im pflanzlichen Organismus vorkommenden phosphorhaltigen organischen Verbindungen zur Zeit nur um das Lecithin handelt, so wäre es richtiger, statt Phosphor: Phosphorsäure (Glycerinphosphorsäure als Bestandtheil des Lecithins) anzugeben; nachdem dies aber bisher nicht geschehen ist, so nehme ich vorläufig Abstand hiervon, um das Vergleichen der Resultate nicht zu erschweren.

Lecithingehalt in 100 Gew.-Theilen Trockensubstanz.

Samen von	Nach der Extraction mit Aether mit Aethylalkohol ausgekocht:			Nach der Extraction mit Aether mit Methylalkohol ausgekocht:		Lecithingehalt nach Schulze und Steiger.
	10 mal.	24 mal.	30 mal.	10 mal.	20 mal.	
Capsicum annuum (Paprika) .	0,926	1,391	1,545	1,699	1,854	—
Vicia sativa (Wicke)	1,131	1,455	1,618	1,536	1,779	1;22
Lupinus luteus (gelbe Lupine)	1,610	1,771	1,939	1,939	2,093	1,57
Soja hispida (Sojabohne). . .	1,564	1,720	1,955	1,876	2,033	1,64
Weizen	—	—	—	—	0,495	0,65
Roggen	—	—	—	—	0,677	0,57
Gerste.	—	—	—	—	0,676	0,74
Gelber Mais	—	—	—	—	0,483	0.25

Wie ersichtlich, konnte bei den viel in Aether lösliches enthaltenden Samen im Allgemeinen mehr Lecithin erhalten werden, als Schulze und Steiger erhielten, während bei den extractarmen Cerealien die von mir erhaltenen Werthe von denen der genannten Forscher nur innerhalb der Fehlergrenzen liegende Abweichungen zeigen. Eine Ausnahme hiervon dürfte der gelbe Mais machen, bei dem ich beiläufig die doppelte Menge Lecithin erhielt. Die kleinen Abweichungen in den Grössen, die durch Extraction mit Aethylalkohol resp. Methylalkohol erhalten wurden, erlauben uns, eine jede dieser Modificationen nach Belieben zu verwenden. Die durch die verschiedenen Lösungsmittel erhaltenen, von einander nur innerhalb der zulässigen Fehlerquellen variirenden Werthe lassen es auch als unzweideutig erscheinen, dass die von mir erhaltenen Zahlen den absoluten Grenzwerthen viel näher stehen, als diejenigen Schulze und Steiger's.

Die Bestimmung des Lecithins auf der angegebenen Weise ausgeführt, ist eine sehr langwierige Operation, nicht nur, weil das Auskochen selbst viel Zeit in Anspruch nimmt, sondern auch desshalb, weil in dem Falle als eine präcise Bestimmung ausgeführt werden soll, wenigstens 15—20 gr. Substanz zu einer Analyse genommen werden müssen, wodurch besonders bei ölreichem Samen sehr viel Oel mit Soda und Salpeter verbrannt werden muss, was nicht nur eine

sehr unangenehme Operation ist, sondern auch auf Rechnung der Genauigkeit der Bestimmung geht, da solche Mengen Oeles kaum ganz ohne Phosphorverlust verbrannt werden können. Es schien desshalb wünschenswerth, die früher angegebene Bestimmungsweise zu vereinfachen und danach zu trachten, dass in dem Falle, als schon das so häufige Auskochen nicht unterbleiben kann, wenigstens diejenigen in Aether löslichen Bestandtheile eliminirt werden, welche bei der Lecithinbestimmung nicht in Betracht kommen. Um das zu erreichen, schien es am zweckmässigsten, die Extraction mit Aether zu umgehen, und zum Auskochen Methylalkohol zu benutzen, welcher die Glyceride nur ziemlich schwer löst, wodurch diese zum Theil wenigstens eliminirt werden, währenddem das Lecithin leichter in Lösung gebracht wird. Bei diesen Bestimmungen, wo die einzelnen Samenmuster also bloss 20 Mal mit Methylalkohol ausgekocht wurden, erhielt ich folgende Phosphor- respective Lecithinmengen:

Samen:	Phosphor.	Lecithin.
Capsicum annuum (Paprika) . .	0,0687	1,788
Vicia sativa (Wicke)	0,0621	1,618
Lupinus luteus (gelbe Lupine) . .	0,0746	1,933
Soja hispida (Sojabohne)	0,0750	1,955
Weizen	0,0222	0,578
Roggen	0,0256	0,667
Gerste	0,0227	0,592
Gelber Mais	0,0185	0,482
	in 100 Gew.-Theilen Trockensubstanz.	

Wie ersichtlich, sind die derart erhaltenen Zahlen von jenen, die durch Extraction mit Aether und Methylalkohol erhalten wurden, kaum verschieden, und sind die Differenzen nicht grösser, als sie sich eben bei derartigen complicirten, mit Fehlerquellen so belasteten Methoden einzuschleichen pflegen.

Um schliesslich zweifellos festzustellen, dass die bei der Extraction erhaltene, phosphorhaltige Substanz thatsächlich Lecithin sei, verfuhr ich in folgender Weise: die mit Aether und hierauf zehnmal mit Aethyl- oder Methylalkohol extrahirten Samen wurden noch zwanzigmal mit Alkohol ausgekocht, worauf letztere alkoholische Lösungen vereinigt verdunstet, und am Wasserbade eingetrocknet wurden. Der Trockenrückstand wurde mit Aether extrahirt, die erhaltene ätherische Lösung dann öfters mit Wasser ausgewaschen und letztere verdunstet. Der Rückstand bildet eine körnige Masse, welche angefeuchtet zerfliesst, und unter dem Mikroskop die characteristischen Myelintropfen zeigt. Wird ferner der Rückstand der ätherischen Lösung verseift, und die Seife zerlegt, so lässt sich in der wässerigen Lösung Phosphorsäure nachweisen, welche, eben weil sie aus einer ätherischen Lösung stammt, nur von der Glycerinphosphorsäure, einem Bestandtheile des Lecithins, herrühren kann. Andererseits aber tritt beim Verseifen gewöhnlich ein starker Geruch nach Trimethylamin auf, welches nur von der Zersetzung des Cholins herrühren kann.

Da auf diese Weise die Fettsäuren, Trimethylamin und Phosphorsäure, nachgewiesen wurden, welch' letztere nur von der Glycerinphosphorsäure herrühren kann, eben weil sie durch Verseifung einer in Aether löslichen Substanz stammt, so unterliegt es keinem Zweifel, dass man es hier mit Lecithin zu thun hat, welches, wie bekannt, nach Diakonow[1]) in die oben erwähnten Bestandtheile zerfällt. Der in Aether nicht lösliche Theil aber des alkoholischen Auszuges enthält Phosphor in wägbarer Menge nicht.

Wiewohl ich schon Eingangs erwähnte, dass die Samen des Capsicum annuum sehr verschiedene Werthe für Lecithin geben, je nachdem man nach Schulze und Steiger verfährt, oder aber die von mir angewendeten Modifikationen anwendet, so hielt ich es doch noch als wünschenswerth, noch in einem der Samen, die zu meinen Bestimmungen benutzt wurden und deren Lecithingehalt in den beigeschlossenen Tabellen enthalten

---

[1]) Tüb. med. chem. Unters., Heft 2, 1867 und 3, 1868.

ist, die Lecithinmenge auch einfach nach dem Verfahren der genannten Forscher zu bestimmen. Es sei mir gestattet, hier zu erwähnen, dass ich bei den Lupinensamen, deren Lecithingehalt von Schulze und Steiger zweimal übereinstimmend gefunden wurde, auf Trockensubstanz berechnet

0,0648 % Phosphor entsprechend
1,692 % Lecithin, also um 0,13 % mehr

als Schulze und Steiger erhielt; während dasselbe Samenmuster nach dem von mir beobachteten Verfahren folgende Zahlen gab:

mit Aether und dreissigmal mit Methylalkohol extrahirt:	1,939 %,
» » » zwanzigmal » » »	2,093 »
blos zwanzigmal mit Methylalkohol extrahirt	1,933 »

Aus diesen Zahlen gefolgert, kann eine jede der erwähnten Modifikationen zur Lecithinbestimmung benutzt werden, wobei aber zu bemerken ist, dass es in dem Falle, als bei ölreichen Samen die Extraction mit Aether dem Auskochen der Samen mit Aethyl- oder Methylalkohol vorangeht, es zweckmässig ist, den Aetherextract für sich mit Soda und Salpeter zu verbrennen, indem hiedurch, wie früher erwähnt, die Verbrennung der Alkoholextracte erleichtert wird. Da die aus dem Aetherextract stammende Schmelze gewöhnlich nur sehr wenig Phosphorsäure enthält, so empfiehlt es sich, die Schmelze nach dem Lösen mit der aus dem alkoholischen Auszug stammende zu vereinigen.

Der Umstand, dass die Cerealien nur wenig Lecithin neben geringen Mengen ätherlöslischen Bestandtheilen enthalten, liess es als wünschenswerth erscheinen, zu versuchen, ob es nicht möglich wäre, wenigstens bei diesen mit einem dreimaligen Auskochen mittelst Aethyl- oder Methylalkohol die darin enthaltene gesammte Menge Lecithin zu erhalten und so die Methode wenigstens für Cerealien zu vereinfachen. Diese Versuche hatten aber ein negatives Resultat im Gefolge, indem in allen Fällen kleinere Zahlen erhalten wurden, wie bei den früher erwähnten Bestimmungsmethoden.

Es wurden nämlich erhalten:

	3mal mit Methylalkohol.		3mal mit Aethylalkohol.	
	Phosphor.	Lecithin.	Phosphor.	Lecithin.
Weizen	0,0174	0,455	0,0142	0,371
Roggen	0,0175	0,458	0,0143	0,374
Gelber Mais . . .	0,0124	0,322	—	—
	in 100 Gew.-Theilen auf Trockensubstanz berechnet.			

Aus all' diesen Versuchen ist ersichtlich, dass man von dem zwanzigmaligen Auskochen mit Methylalkohol kaum abgehen kann, wenn für die in den Samen enthaltenen Lecithinmengen richtige Werthe erhalten werden sollen. Damit will ich aber nicht gesagt haben, dass es nicht möglich sei, aus einer oder der anderen Samenart die gesammte Lecithinmenge etwa durch sechzehn- oder achtzehnmaliges Auskochen zu entfernen, sondern nur, dass das zwanzigmalige Auskochen eine, unter den bisherigen Verhältnissen nöthige Operation ist, um sicher der Wirklichkeit entsprechende Zahlen zu bekommen.

Auf Grund dieser Versuche entfällt auch das, was Schulze und Frankfurt[1]) bezüglich der Schulze und Steiger'schen Methode erwähnen, dass sie nämlich nach dem zweimaligen Auskochen mit Alkohol entweder gar keinen oder nur Spuren von Phosphor nachweisen konnten, da es sonst unmöglich wäre, dass man nach der von mir empfohlenen Modifikation mehr Lecithin bekommt, als genannte Forscher bei Anwendung ihrer Methode erhielten.

Das Endresultat meiner bisherigen Versuche lässt sich kurz in dem Folgenden zusammenfassen:

1. Wenn irgend eine Substanz pflanzlichen Ursprungs mit Aether und hierauf zweimal je eine Stunde lang mit Alkohol extrahirt wird, so geht nur ein Theil des Lecithins in Lösung.
2. Behufs quantitativer Bestimmung des Lecithins muss die Substanz nach der Extraction mit Aether wenig-

[1]) Landw. Versuchsstat. XLIII, S. 313.

stens dreissigmal mit Aethyl- oder zwanzigmal mit Methylalkohol ausgekocht werden, u. z. derart, dass eine Auskochung 8—10 Minuten dauert, keinesfalls aber länger als eine Viertelstunde.

3. Vereinfacht kann die Methode derart werden, dass die Substanz blos zwanzigmal u. z. mit Methylalkohol ausgekocht wird.

Budapest, Chemische Reichsanstalt 1894, 22. April.

Ueber die giftige Wirkung des Diamids, des Dibenzoyldiamids und über das Vorkommen des Allantoins im Harn.

Von

Dr. med. **Peter Borissow** (aus Petersburg).

(Aus dem Laboratorium von Prof. E. Baumann in Freiburg i. B.)

(Der Redaction zugegangen am 5. Mai 1894.)

Nachdem Curtius gezeigt hatte, dass das Diamid mit jeder Aldehydgruppe, sogar in stark verdünnten und sauren Lösungen, sehr fest sich verbindet, war es von Interesse, seine Wirkung auf den thierischen Stoffwechsel zu untersuchen.

O. Löw[1]) fand, dass das Diamid Keimlinge, Algen, niedere Pilze, Infusorien und niedere Wasserthiere in schwachen, ganz neutralen Lösungen sehr schnell tödtet. Es tödtet z. B. verschiedene Algenarten bei einer Verdünnung von 1 : 10,000 in 1—2 Tagen. Seine giftige Wirkung auf Thiere scheint bisher nur wenig untersucht worden zu sein. Wir wissen[2]) nur von einer kleinen Mittheilung H. Buchner's[3]), welcher zwei Versuche an Meerschweinchen und einen an Kaninchen gemacht hat. Er beobachtete, dass ein Kaninchen von 0,5 gr., Meerschweinchen von 0,1 gr. unter Krämpfen und Lähmungserscheinungen in $1^1/_4$—$1^1/_2$ Stunden starben.

---

[1]) Ber. d. Deutsch. Chem. Gesellsch., 1890, S. 3203.

[2]) Nach Abschluss unserer Arbeit erschien noch eine Mittheilung von Dario Baldi, welcher fand, dass das Diamid keine Verwendung in der Medicin haben kann. Centralblatt für Chemie, 1894.

[3]) Ber. d. Deutsch. Chem. Gesellsch., 1890, S. 3206.

In welcher Weise aber der Stoffwechsel durch das Diamid beeinflusst wird, ob dieser Körper selbst dabei verändert wird, oder Verbindungen des Diamids mit Stoffwechselproducten im Harn erscheinen, über diese Frage liegen bis jetzt keine Untersuchungen vor. Um diese Lücke auszufüllen, habe ich auf einen Vorschlag des Herrn Prof. Baumann einige Versuche an Hunden gemacht, deren Ergebnisse im Folgenden mitgetheilt werden.

Wir benützten bei unseren Versuchen das neutrale Diamidsulfat, welches unter die Haut der Hunde injicirt wurde.

Bei nicht grossen Dosen (bis 0,05 gr. Diamidsulfat auf 1 Kilo Körpergewicht) war nichts Besonderes zu bemerken, ausser einer schwachen Erregung, bei grossen Dosen (0,1 gr. und mehr Diamidsulfat auf 1 Kilo Körpergewicht) aber traten starke Erregungszustände mit Sinnestäuschungen ein. Diesen folgt eine im Anfang schwache, nach und nach stärker werdende Depression, welche in ächtes Coma übergeht, in letzterem stirbt der Hund nach ein oder zwei Tagen. Was die Wirkung auf den Verdauungsapparat anlangt, so beobachtet man bei sehr kleinen Dosen (0,02 gr. Diamidsulfat auf 1 Kilo Körpergewicht) nur Erbrechen und keine anderen Erscheinungen, bei grösseren Dosen entsteht auch starke Speichelabsonderung.

Das Erbrechen trat 10—20 Minuten nach der Vergiftung auf und dauerte 12 oder mehr Stunden; in der ersten und zweiten Stunde wiederholte es sich alle 10—15 Minuten, nachher nicht so oft. Die Speichelabscheidung bleibt bis zu den letzten Minuten des Lebens reichlich. Zugleich mit dem ersten Erbrechen, oder etwas später entleert der Hund ein- oder zweimal Fäces von ungefähr normaler Consistenz.

Was die Herzthätigkeit betrifft, so zeigten sich etwas stärkere Herzstösse im Anfang, im Coma aber und beim depressiven Zustande beobachtet man Arytmia und ausserdem sind die Contractionen des Herzens sehr oft so schwach, dass der Puls ganz unregelmässig wird. Der Puls war zuerst beschleunigt, wurde aber, je näher dem Tode, desto langsamer. Z. B. beim Hunde Nr. 1 zeigte der Puls 8 Stunden vor dem Tode — 108 Schläge in der Minute, 4 St. vor dem Tode

— 60; 2 St. — 46; 1 St. — 38 und $^1/_4$ St. vor dem Tode 15 Schläge.

In Beziehung auf die Athmung war es bemerkenswerth, dass der Hund im Coma von Zeit zur Zeit ganz besondere Athembeschwerden bekam, welche dem Asthma pectoral der Menschen sehr ähnlich waren. Solche Beschwerden entstehen, wenn der Hund nicht sehr rasch stirbt, nicht gleich nach der Vergiftung, sondern erst nach 10 oder mehr Stunden; auch dauern sie nicht ohne Unterbrechungen und nicht bis zum Tode fort. In dieser Zeit beobachtet man eine schwache unregelmässige Herzthätigkeit.

Bei kleineren Dosen fällt die Körpertemperatur der Hunde sehr wenig oder gar nicht, bei grösseren Dosen und bei Hunden, welche nicht gleich sterben, sinkt die Temperatur ziemlich stark. Der Hund Nr. 1 z. B. hat 6 Stunden vor dem Tode 35,40° C. und $1^1/_2$ Stunden vor dem Tode 28° C. gehabt, während die normale Temperatur bei ihm 38,3° C. betragen hatte.

Untersuchungen der Ausscheidungen.

Der Harn war, ausser in einem Falle, bei allen Versuchen mehr oder weniger stark sauer, während er vorher neutrale oder schwach saure Reaction gezeigt hatte.

Die Zunahme der sauren Reaction des Harns konnte von dem Hungerzustande der Hunde herrühren, da sie nach der Vergiftung nichts frassen. Im Harne befand sich in keinem Falle unverändertes Diamid. In allen Versuchen, ausser bei Nr. 6, 7 und 9, hatte der Harn etwas Eiweiss. Beim Hunde Nr. 1 waren etwas Gallenpigmente bemerklich. Nach dem Eindampfen auf ein kleines Volumen krystallisirte nach einiger Zeit eine Substanz aus, welche in Aether, kaltem Alkohol nicht, in kaltem Wasser schwer und in warmem Wasser sehr gut löslich war. Die wässerige Lösung reagirte neutral. Aus dem Harne krystallisirte diese Substanz in Naden, welche zu Büscheln vereinigt waren. Nach der Reinigung durch wiederholte Krystallisation aus der heissen wässerigen Lösung bildete sie lange durchsichtige Prismen. Beim Erhitzen bleibt die Substanz bis auf 220° C. unverändert, bei höherer Temperatur bräunt sie

sich und schmilzt unter Zersetzung und Gasentwickelung bei 231° C. Bei der Analyse gaben 0,1043 gr. dieser Substanz 32,4 cbcm. Stickstoff bei 19° und bei 743 mm. Luftdruck, was 34,9 % Stickstoff entspricht.

0,2165 gr. dieser Substanz gaben bei der Verbrennung 0,2412 gr. Kohlensäure und 0,0815 gr. Wasser = 30,38 % Kohlenstoff und 4,18 % Wasserstoff.

Da diese Substanz ausser den genannten Bestandtheilen nur noch Sauerstoff enthielt, so ergibt sich für letzteren ein Gehalt von 30,54 %. Danach stimmt die procentische Zusammensetzung unserer Substanz fast genau mit derjenigen des Allantoins $C_4H_6N_4O_3$ überein.

	Gefunden:	Berechnet für $C_4H_6N_4O_3$:
C	30,38 %	30,38 %.
H	4,18 »	3,79 »
N	34.9 »	35,34 »
O	30,54 »	30,39 »

Dass die aus dem Harn abgeschiedene Substanz in der That Allantoin ist, wurde durch die Darstellung und Analyse der Silberverbindung bewiesen. Letztere erhielten wir in Form einer weissen krystallinischen Fällung, als die ammoniakalische Lösung der Substanz mit Silbernitrat versetzt wurde.

0,4294 gr. der Silberverbindung gaben 0,1744 gr. = 40,62 % Silber, dem Allantoinsilber kommt ein Gehalt von 40,75 % Silber zu

Danach ist es nicht zweifelhaft, dass die im Harn der Hunde gefundene Substanz nichts anders als Allantoin ist.

Was die Zeit seiner grösseren Ausscheidung betrifft, so ist hierfür besonders bemerkenswerth auf Grund des Versuches Nr. 5, dass der grössere Theil des Allantoins in den ersten Stunden nach der Vergiftung producirt wird. Vom Hunde Nr. 5 sammelten wir den Harn der ersten 6 Stunden, der folgenden 15 Stunden und schliesslich den bis zum Tode des Hundes in der Blase angesammelten Harn. Bei den ersten beiden Harnportionen fanden sich viel mehr Krystalle als bei dem zuletzt producirten Harn. Dieser Hund hatte 2 gr. Diamidsulfat bekommen und lieferte im Ganzen 0,32 gr. Allantoin,

welches beim Eindampfen des Harns auf ein kleines Volumen direct auskrystallisirte und durch dreimalige Krystallisation gereinigt wurde, wobei erhebliche Verluste an Allantoin natürlich nicht zu vermeiden waren.

Bei 4 Versuchen wurde das Allantoin schon durch Eindampfen des Harns auf ein kleines Volumen in Krystallen erhalten, während beim Eindampfen des normalen Harns keine Krystalle gefunden wurden. Im 1. Versuche wurden diese Krystalle schon beim Stehen des Harns in verschlossenem Gefässe ausgeschieden. Beim Hunde Nr. 6 konnten wir beim Eindampfen sowohl des normalen, als auch des nach Vergiftung producirten Harns keine Krystalle finden. Das beim Eindampfen des Harns auskrystallisirte Allantoin stellte natürlich immer nur einen Bruchtheil der Gesammtmenge des Allantoins dar, da letzteres in reichlicher Menge in dem eingedampften Harn gelöst bleibt. Wie gross der Gehalt des Harns an Allantoin sein muss, damit letzteres beim Eindampfen direct auskrystallisirt, zeigte uns der Versuch 7, bei welchem wir beim Eindampfen des Harns keine Krystalle erhielten, aber nach Anwendung der Methode Meissner's aus dem Harn von 2 Tagen 1,2 gr. reines Allantoin abscheiden konnten. Bei diesem Versuch hatte der Hund 0,02 gr. Diamidsulfat auf 1 Kilo seines Gewichtes bekommen. Bei der Untersuchung des normalen Harns (bei Fütterung mit Hundezwieback) nach Meissner's Methode und eines Harns, welchen dieser Hund nach Einspritzung von 0,01 gr. Diamidsulfat auf 1 Kilo seines Gewichts gegeben hatte, fanden wir kein Allantoin.

Aus allen Versuchen geht daher hervor, dass entweder die Bildung oder die Ausscheidung des Allantoins im Organismus nach der Vergiftung mit Diamid ganz erheblich vergrössert wird.

Bei der Untersuchung des Speichels in den ersten Stunden nach der Vergiftung haben wir auch eine kleine Menge einer Substanz gefunden, welche in derselben Form, wie das Allantoin, krystallisirt und auch unlöslich in Aether und im Alkohol ist, schwer in kaltem, leicht in warmem Wasser und in Alkalien sich löste. Diese Substanz zersetzt sich auch unter Gasentwickelung und Schmelzung bei 228—230°. Ihre Menge

war aber so klein, dass wir sie nicht analysiren konnten. Nach genauer Beobachtung aller ihrer Eigenschaften konnte auch diese Substanz nichts anderes als Allantoin sein. Bei einem anderen Hunde und am anderen Tage nach der Vergiftung konnten wir diese Substanz nicht wieder finden.

Die Untersuchungen des Blutes nach dem Tode der Hunde mit dem Spectroskop ergaben keine merkbaren Veränderungen und der Versuch, das Allantoin im Blute zu finden, blieb ohne positiven Erfolg.

Bei der Autopsie fanden wir immer dasselbe Bild, welches mehr oder weniger deutlich ausgeprägt war: Grosse Hyperämie der Gedärme, Vergrösserung und Hyperämie der Leber und grosse Hyperämie der Nieren. Die Gallenblase war ziemlich ausgedehnt und mit Galle angefüllt. Unter dem Mikroskop (Vers. Nr. 2) fanden wir, dass die Capillaren der Leber und der Nieren sehr erweitert und mit Blut angefüllt waren.

Tabelle I der Versuche.

Nr.	Gewicht des Hundes.	Wie viel Diamidsulfat hat der Hund bekommen?	Wie viel auf 1 Kilo seines Gewichts?	Wie lange lebte der Hund?	Nachweis des Allantoins.
1	10,000 Kgr.	2,0 gr.	0,2 gr.	26 St.	Das Allantoin krystallisirte ohne Eindampfen.
2	21,500 »	4,0 »	0,19 »	$1^1/_2$ »	Kein Harn.
3	8,300 »	1,5 »	0,12 »	ca. 40 »	Allantoin krystallisirte beim Eindampfen des Harns.
4	5,400 »	0,5 »	0,09 »	ca. 18 »	Desgleichen.
5	19,000 »	2,0 »	0,11 »	ca. 44 »	Desgleichen 0,3 gr.
6	39,000 »	2,3 »	0,06 »	Nach $2^1/_2$ Tagen getödtet.	Keine Allantoin-Krystalle beim Eindampfen des Harns.
7	26,500 » (Derselbe Hund.)	0,53 »	0,02 »	Der Hund war 2 Tage krank.	Keine Allantoin-Krystalle beim Eindampfen des Harns. 1,2 gr. Allantoin wurde nach Meissner's Methode abgeschieden.
8	26,500 » (Derselbe Hund.)	0,26 »	0,01 »	Gesund.	Kein Allantoin (Meissner's Methode).

Giftige Wirkung des Dibenzoyldiamids.

Es war von Interesse, zu untersuchen, wie die Wirkung und der Charakter der Vergiftung sich verändert, wenn statt des Diamidsulfats eine feste organische Verbindung des Diamids verwendet wurde. Wir wählten dazu die Dibenzoylverbindung. Während das Diamid Silber- und alkalische Kupferlösung in der Kälte reducirt, wirkt die Dibenzoylverbindung zwar noch in der Kälte auf Silberlösung, aber langsamer, als das Salz ein; mit alkalischer Kupferlösung tritt aber erst beim Erwärmen eine sehr schwache Reduction ein.

Das Dibenzoyldiamid bekam Curtius beim Kochen von Benzoyldiamid, indem Diamid abgespalten wird; wir stellten es auf folgendem Wege dar:

10 gr. Diamidsulfat wurden in 50 cbcm. Wasser unter gleichzeitiger Neutralisation mit Soda gelöst, nachher wurden 25 cbcm. Benzoylchlorid und 250 cbcm. 10procentige Natronlauge hinzugefügt. Diese Mischung wurde geschüttelt, bis der Benzoylchloridgeruch verschwunden war. Da das Dibenzoyldiamid in Natronlauge löslich ist, wurde zur völligen Abscheidung des Dibenzoyldiamids durch die Flüssigkeit ein Strom von Kohlensäure hindurchgeleitet. Der abfiltrirte Niederschlag wurde in schwacher Natronlauge wieder gelöst und aus der abfiltrirten Flüssigkeit aufs Neue durch Kohlensäure abgeschieden. Der jetzt erhaltene Niederschlag wurde abfiltrirt, mit Wasser gut gewaschen und in heissem Alkohol gelöst. Nach dem Erkalten des Alkohols krystallisirte die Substanz in nadelförmigen weissen Krystallen.

Bei der Analyse gaben 0,2393 gr. dieser Substanz = 25,2 cbcm. Stickstoff bei 21° und 737 mm. Barometerdruck, was 11,61 % Stickstoff entspricht.

0,1976 gr. dieser Substanz gaben 0,5056 gr. Kohlensäure und 0,096 gr. Wasser, was 70,1 % Kohlenstoff und 5,42 % Wasserstoff entspricht.

	Gefunden:	Berechnet: für $(C_6H_5CO)NH - NH(C_6H_5CO)$:
N	11,61 %	11,7 %.
C	70,1 »	70,0 »
H	5,42 »	5,0 »

[1]) Ber. d. Deutsch. Chem. Gesellsch., 1890, S. 3029.

Der Schmelzpunkt lag bei 237° C. Curtius fand den Schmelzpunkt der von ihm dargestellten Verbindung bei 232° C.

Wir haben mit dieser Substanz drei Versuche gemacht, welche in folgender Tabelle dargestellt werden.

Tabelle II.

Nr.	Gewicht des Hundes.	Wie viel hat der Hund bekommen?	Wie viel auf 1 Kilo des Gewichts?	Wie lange lebte der Hund?
1	6,000Kgr.	2,0—2,5 gr.[1]	0,3—0,4 gr.	3 Stunden.
2	4,500 »	0,9 gr.	0,2 gr.	2 Tage krank und erholte sich.
3	11,000 »	1,1 »	0,1 »	1 Tag krank und erholte sich.

Es wäre von Interesse gewesen, eine Vergleichung der Giftwirkungen dieser Substanz und des Diamidsalzes unter denselben Bedingungen auszuführen. Allein gerade die letzteren liessen sich nicht erzielen. Das Dibenzoyldiamid konnten wir nicht unter die Haut einspritzen, weil diese Substanz nur in Alkalien und in Weingeist schwer löslich ist. Das Diamid aber konnten wir wegen des dadurch verursachten Erbrechens nicht in den Magen einführen. Desshalb war es schwer, die Stärke der Giftwirkung zu vergleichen. Man kann nur sagen, dass unter den vorliegenden Umständen die Wirkung des Dibenzoyldiamids ungefähr fünfmal schwächer, als die des Diamidsulfates ist. Dabei ist aber zu bemerken, dass eine Vergleichung der Giftwirkung beider schon desshalb nicht leicht auszuführen wäre, weil die Ursachen des Todes und das Bild der Wirkung dieser Gifte verschieden sind.

Was die Wirkung auf den Nervenapparat anlangt, so traten auch nach der Benzoylverbindung bei tödtlichen (Vers. Nr. 1) Dosen starke Erregungszustände mit Sinnesstörungen ein. Bei kleineren Dosen wurde nur ein depressiver Zustand und kein Coma beobachtet. Im Gebiet des Verdauungsapparates beobachtet man folgenden Unterschied: Bei Vergiftung mit Dibenzoyldiamid findet keine verstärkte Speichelabscheidung

---

[1]) Der Hund hat 6 gr. bekommen, aber nach dem Tode wurden 3,5—4 gr. aus dem Magen wieder zurückerhalten.

statt, ebenso kein Erbrechen, sondern nur starker Durchfall. Bei Vergiftung mit Diamid aber ist kein stärkerer Durchfall, aber eine gesteigerte Speichelabscheidung und Erbrechen immer vorhanden, obgleich das Gift unter die Haut eingespritzt wurde.

Bei der Athmung beobachtet man bei tödtlichen Dosen vom ersten Augenblick an ähnliche Beschwerden wie bei der Vergiftung mit Diamid. Es ist aber auch dabei ein grosser Unterschied. Während wir bei der Vergiftung mit Diamid nach diesen Beschwerden eine Arythmie des Herzens fanden, so sahen wir hier, dass diese Beschwerden nur von Krämpfen der Athemmuskeln herrührten. Besonders ist dies gegen das Ende dieser Beschwerden bemerkbar.

Was die Allantoinausscheidung im Harne betrifft, so konnten wir nichts Besonderes wahrnehmen.

Im ersten Versuche war kein Harn in der Blase, weil der Hund denselben bei der ersten Athmungsbeschwerde gelassen hatte. Beim zweiten Versuche wurden 0,07 gr. Allantoin nach Meissner's Methode gefunden. Beim dritten Versuche wurde kein Allantoin gefunden (Methode Meissner's).

Was die Allantoinausscheidung aus dem thierischen Körper betrifft, so wurde es zuerst in der Amniosflüssigkeit der Kuh [Vauquelin[1]) und Lassaigne[2])] und im Harne neugeborener Kälber (Wöhler[3]) beobachtet. Beim Menschen fand man das Allantoin auch in der Amniosflüssigkeit und im Harne neugeborener Kinder. Im normalen menschlichen Harne findet sich das Allantoin in geringer Menge, mehr im Harne von Schwangeren (Gusserow und Hermann[4]).

Muskatelli[5]) fand auch das Allantoin in der Ascitesflüssigkeit bei Lebercirrhose. Im Harn von Hunden fanden Frerichs und Staedeler[6]) das Allantoin, nachdem sie

---

[1]) Ann. d. Chemie, Bd. XXXIII, S. 269.
[2]) Ann. de Chim. et de Phys., Bd. XVII, S. 301.
[3]) Ann. d. Chemie, Bd. 70, S. 229.
[4]) Handb. d. Chem. Ann., Hoppe-Seyler, 6. Aufl., 1893, S. 127.
[5]) Zeitschrift für physiol. Chemie, Bd. 13, S. 202.
[6]) Müller's Archiv für Physiologie, 1854.

Athembeschwerden bei ihnen hervorgerufen hatten. Später fand Meissner[1]) auch das Allantoin im Harne eine Hundes, nachdem der Hund nach lange Zeit fortgesetzter fettreicher Diät krank wurde und diese Diät verweigerte. Etwas später fand Meissner noch, dass eine kleine Menge Allantoin bei reichlicher animalischer Nahrung von Hunden und von Katzen ausgeschieden wird. Im Mittel für den Tag war die Menge Allantoin: bei Katzen 0,05 gr., beim Hund 0,02—0,03 gr. Bei drei Hunden fand er auch nach Fütterung mit Brod allein Allantoin, welches fehlte nach Fütterung mit Kartoffeln und Fett. Er äussert sich hierüber in folgender Weise: «so ergibt sich mit Sicherheit, dass der Hund bei Ernährung mit vorzugsweise eiweissartiger Substanz, animalischer Nahrung, Harnsäure und Allantoin ausscheidet, bei Ernährung mit einer an Eiweissstoffen sehr armen, besonders an Stärkemehl sehr reichen Nahrung, weder Harnsäure noch Allantoin». Bei guter Fleischkost fand Salkowski[2]) bei zwei Hunden im Harne auch Allantoin, ausserdem fand er das Allantoin im Harne nach Einführung der Harnsäure in den Magen von Hunden. Ausser in thierischen Körpern findet sich das Allantoin auch in Pflanzen: in Platanensprossen (Schulze und Barbieri[3]), in jungen Sprossen der Acerarten, in der Rinde von Aesculus hippocastanum (Schulze und Bosshard[4]) und in Weizenkeimen (Richardson und Crampton[5]).

Nach unseren Versuchen steht es ohne Zweifel fest, dass das Diamid auf irgend eine Weise die Bildung des Allantoins im Körper veranlasst. Es ist nicht denkbar, dass es nur in Folge von Athmungsbeschwerden entstand, weil diese nicht bei allen Versuchen zu bemerken waren; wie auch der Versuch Nr. 5 zeigt, dass die Bildung des Allantoins in den ersten

---

[1]) Nachricht. v. d. k. Gesellsch. d. Wiss., Göttingen 1865, S. 41. Zeitschrift für ration. Medicin., 3. Reihe, Bd. XXXI, S. 304.

[2]) Ber. d. Deutsch. chem. Gesellsch., Bd. 9, S. 719, und Bd. 11, S. 500.

[3]) Journal f. prakt. Chemie, Bd. 25, S. 145.

[4]) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 9, S. 420.

[5]) Ber. d. Deutsch. chem. Gesellsch., Bd. 19, S. 1180.

Stunden nach der Vergiftung, wo keine Athmungsbeschwerden vorhanden waren, reicher war, als später. In dem 7. Versuch z. B., wo nicht nur keine Athembeschwerden, sondern auch keine anderen, besonderen Erscheinungen (ausser ein eine Stunde andauerndes Erbrechen) vorhanden waren, fanden wir im Harne nach 2 Tagen 1,2 gr. Allantoin.

Ausserdem sprechen selbst Frerichs und Staedeler sich dahin aus, dass es noch zweifelhaft ist, ob Athmungsbeschwerden und das Vorkommen des Allantoins im Harn zusammenhängen. In der That haben sie nur zwei Versuche gemacht und bei diesen könnte man beanstanden, dass sie die Athembeschwerden, einmal durch Chlor und das andere Mal durch Einspritzen von Oel in die Lunge, hervorzurufen suchten. Beim Einspritzen von Oel in die Lunge entsteht nicht nur eine Verminderung der Athmungsoberfläche, sondern auch eine Störung des Blutkreislaufes, auch können noch viele andere Unregelmässigkeiten dadurch hervorgerufen werden. Beim Einathmen von Chlor kommt aber nicht sowohl die Verminderung des Luftzutritts in Betracht, sondern in viel höherem Grade die specifische Wirkung des Chlors. Auch in unseren Versuchen wird das Vorkommen des Allantoin nicht sowohl durch Athmungsbehinderung, sondern vielmehr durch die giftige Wirkung des Diamids auf die Zellen des Thierkörpers bedingt. Besonders beachtenswerth erschienen hierbei die Veränderungen in der Leber, welche wir bei der Autopsie fanden. Da die Leber unter normalen Verhältnissen an der Bildung von Substanzen, welche dem Allantoin nahe stehen, wie der Harnsäure, welche durch Oxydation Allantoin liefert, und des Harnstoffs, welcher aus Allantoin entstehen kann, betheiligt ist, könnte man daran denken, dass das Allantoin nach der Vergiftung mit Diamid desshalb im Harn auftrete, weil die Thätigkeit der Leberzellen durch die Wirkung des Diamids gestört wurde.

In dem Vorkommen des Allantoins bei Lebercirrhose könnte man eine Bestätigung dieser Ansicht erblicken. Auch die Beobachtungen Salkowski's, dass nach Eingabe von Harnsäure bei Hunden neben dem Allantoin im Harn die

Ausscheidung der Oxalsäure und des Harnstoffs vermehrt ist, weisen darauf hin, dass auch unter normalen Verhältnissen ein Theil der im Organismus producirten Harnsäure durch Oxydation weiter zerfällt, wobei das Allantoin als Zwischenproduct auftritt. Danach würde Manches dafür sprechen, dass die Ausscheidung des Allantoins im Harn bei der Vergiftung mit Diamid, als die Folge der Hemmung eines natürlichen oder normalen Vorgangs anzusehen ist.

Zur Bestimmung des Cystins im Harn.

Von

Dr. med. **Peter Borissow** (aus Petersburg).

(Aus dem Laboratorium von Professor Baumann in Freiburg i. B.)
(Der Redaction zugegangen am 5. Mai 1894.)

Vor einiger Zeit hat Brenzinger[1]) gezeigt, dass das salzsaure Cystëin mit Quecksilberchlorid in wässeriger Lösung eine fast ganz unlösliche krystallinische Verbindung gibt, in welcher 3 Mol. Quecksilberchlorid mit 2 Mol. Cystëin unter Abspaltung freier Salzsäure zusammengetreten sind. Brenzinger schreibt dieser Verbindung die Formel $2 (C_3H_7NSO_2) + 3 HgCl_2$ zu, bemerkt aber, dass sie beim Auswaschen mit Wasser Salzsäure und Quecksilberchlorid verliere, wesshalb die Analyse keine gut stimmenden Werthe geliefert hat. Beim Trocknen im Vacuum und über Schwefelsäure wird gleichfalls Salzsäure (7—8 %) abgegeben.

Die geringe Löslichkeit dieser Substanz in Wasser und der Umstand, dass sie aus schwach salzsaurer Lösung ebenso vollständig als aus der säurefreien Lösung ausgefällt wird, sprachen dafür, dass sie für die Abscheidung des im Cystinharn gelösten Cystins verwerthet werden könne, wofür eine

---

[1]) Diese Zeitschrift, Bd. 16, S. 557.

hinreichend genaue Methode bis jetzt nicht existirt[1]). Auf Vorschlag von Herrn Prof. Baumann habe ich es unternommen, diese Frage einer Prüfung zu unterziehen.

Zunächst war es von Wichtigkeit, zu ermitteln, ob grössere Mengen von Salzsäure und von Salzen die Ausfällung der Quecksilberverbindung des Cystëins beeinträchtigen. Brenzinger[2]) hat aus 2,4 gr. Cystin, welchen er zuvor durch Behandlung mit Zinn in salzsaurer Lösung in Cystin überführte, 9,6 gr. der Quecksilberverbindung erhalten, während nach der Theorie 9,8 gr. gebildet wurden.

I. Versuch. 0,088 gr. Cystin wurden in 20 cbcm. verdünnter Salzsäure (1 : 10) gelöst und mit Zinnfolie auf dem Wasserbade behandelt. Die abfiltrirte Lösung wurde auf 100 cbcm. verdünnt, mit Schwefelwasserstoff behandelt und nach Entfernung des Schwefelwasserstoffs durch einen Kohlensäurestrom wieder filtrirt. Das Filtrat wurde mit Quecksilberchloridlösung versetzt. Der weisse krystallinische Niederschlag wurde nach 24 Stunden abfiltrirt und über Schwefelsäure getrocknet. Sein Gewicht betrug 0,1845 gr., entspr. 0,0486 gr. Cystin, oder 55,2 % der wirklich vorhandenen Menge.

Um die Wirkung der grösseren Menge freier Salzsäure, welche im ersten Versuch die völlige Abscheidung der Quecksilberverbindung verhinderte, auszuschliessen, wurde beim folgenden Versuch weniger Salzsäure und zur Reduction Zink genommen, ausserdem Natriumacetat zu der Flüssigkeit hinzugefügt.

II. Versuch. 0,202 gr. Cystin wurden in 15 cbcm. verdünnter Salzsäure gelöst. Die Lösung wurde mit 50 cbcm. Wasser vermischt und mit Zink behandelt. Die vom Zink abfiltrirte Flüssigkeit wurde mit 1,5 gr. Quecksilberchlorid und 7 gr. Natriumacetat in gesättigten Lösungen versetzt. Das Gewicht des Niederschlages betrug nach dem Trocknen über Schwefelsäure 0,4285 gr. Nach 24 Stunden hatte sich aus dem Filtrat ein weiterer Niederschlag, welcher 0,0995 gr. wog, abgeschieden. Wir erhielten also im Ganzen 0,5280 gr. der

---

[1]) Vergl. B. Mester diese Zeitschrift, Bd. 14, S. 109.

[2]) L. c.

Quecksilberverbindung des Cystins. 0,528 gr. dieser Verbindung entsprechen 0,15 gr. Cystin, oder 70,7 % der wirklich vorhandenen Menge.

Beim folgenden Versuche wurde die Reduction auf dem Wasserbade ausgeführt und die Lösung bis auf ein kleines Volumen verdunstet.

III. Versuch. 0,2015 gr. Cystin wurden in 10 cbcm. verdünnter Salzsäure gelöst, mit 50 cbcm. Wasser vermischt und mit Zink auf dem Wasserbade behandelt. Das Filtrat vom Zink nebst Waschwasser wurden auf dem Wasserbade bis zu 30—40 cbcm. verdunstet. Nach dem Erkalten wurde diese Flüssigkeit mit 1,5 gr. Quecksilberchlorid in gesättigter Lösung vermischt, hierbei entstand ein erster Niederschlag, welcher nach 24tägigem Trocknen über Schwefelsäure 0,4002 gr. wog. Zu dem Filtrate des Niederschlags wurden 5 gr. Natriumacetat (in gesättigter Lösung) hinzugesetzt, worauf ein zweiter Niederschlag entstand, welcher nach dem Trocknen 0,3395 gr. wog. Als zum Filtrat noch Quecksilberchlorid hinzugesetzt wurde, entstand beim Stehen ein dritter Niederschlag von 0,094 gr. Also erhielten wir 0,4002 + 0,3395 + 0,094 = 0,8337 gr., was nach Brenzinger 0,1896 gr. Cystin oder 94,1 % der wirklich vorhandenen Menge entspricht.

Da Brenzinger fand, dass die Quecksilberverbindung beim Trocknen über Schwefelsäure in 39 St. zwischen 7—8 % an Gewicht verliert, so war anzunehmen, dass beim letzten Versuch alles Cystin in dem Niederschlag enthalten war. Um uns davon zu überzeugen, wurde noch eine Schwefelbestimmung nach Carius' Methode ausgeführt.

0,2100 gr. der erhaltenen Quecksilberverbindung gaben 0,1024 $BaSo_4$, was 6,76 % S in der Substanz entspricht. Brenzinger fand 6,62 %. Berechnen wir nach diesem Procentgehalt an Schwefel, wie viel Cystin wir bekommen haben, so resultiren 0,2044 gr. Wir haben also zuviel und zwar um 0,003 gr. gefunden; diese Differenz kann durch einen kleinen Fehler der Schwefelbestimmung oder durch die Unbeständigkeit der Verbindung bedingt sein, wofür auch folgende Erfahrung spricht.

Als wir nach 7 Tagen noch einmal Schwefelbestimmungen derselben Substanz machten, wurden noch etwas höhere Werthe gefunden:

1. 0,2010 gr. Substanz gaben 0,1055 $BaSO_4$, was 7,03 % Schwefel entspricht.
2. 0,2015 gr. Substanz gaben 0,1079 $BaSO_4$ = 7,35 % Schwefel.

Um uns von den erhaltenen Resultaten besser zu überzeugen, haben wir noch einen Versuch gemacht.

IV. Versuch. 0,2005 gr. Cystin wurden in 10 cbcm. verdünnter Salzsäure gelöst und nach Zusatz von 50 cbcm. Wasser mit Zink auf dem Wasserbade behandelt. Nach der Filtration wurde die Flüssigkeit etwas eingedampft und nach dem Erkalten mit 2 gr. Quecksilberchlorid und 8 gr. Natriumacetat in gesättigten Lösungen versetzt, wodurch ein Niederschlag entstand. Am folgenden Tage wurde dieser Niederschlag abfiltrirt, mit Wasser gewaschen und über Schwefelsäure getrocknet, bis keine Veränderung des Gewichts mehr stattfand. Das Gewicht der Substanz nach 2 tägigem Trocknen betrug 0,774 gr. und verringerte sich bei längerem Stehen im Exsiccator bis auf 0,768 gr. Eine Schwefelbestimmung ergab aus 0,1560 gr. Substanz 0,079 gr. $BaSO_4$, was 6,96 % Schwefel entspricht.

Bei Berechnung auf Grund der Schwefelbestimmung haben wir somit 0,20046 gr. Cystin wieder gefunden, während 0,2005 gr. Cystin in Arbeit genommen. Wir ersehen daraus, dass man auf dem geschilderten Wege eine Bestimmung des Cystins in wässeriger Lösung ganz ohne Fehler machen kann.

Was die Zusammensetzung der Quecksilberverbindung anlangt, so haben wir im Mittel aus drei Bestimmungen gut getrockneter Substanz für den Schwefel 7,11 % und nicht 6,06 %, wie der Formel von Brenzinger entsprechen würde, gefunden. Das hängt, wie Brenzinger selbst bemerkt, und wie es auch aus seiner Analyse hervorgeht, von dem Verlust der Substanz an Salzsäure ab. Um Fehler zu vermeiden, ist es desshalb erforderlich, nicht nur das Gewicht der Quecksilberverbindung, sondern auch ihren Schwefelgehalt zu be-

stimmen und letzteren für die Berechnung des im Niederschlag enthaltenen Cystins zu verwerthen.

Da die Verbindung des Cystëins mit Quecksilberchlorid unbeständig ist und sich beim Trocknen immer verändert, so muss man bei Berechnung der Menge des Cystins auf Grund der Zahlen der Quecksilbersteinverbindung eine gut über Schwefelsäure getrocknete Substanz haben; von dieser Verbindung entsprechen dann nach unseren Bestimmungen 0,767 gr. annähernd = 0,2 gr. Cystin (nach Brenzinger = 0,192 gr. Cystin). Um die Brauchbarkeit der Methode für die Cystinbestimmung im Harn zu prüfen, stand mir ein natürlicher Cystinharn, welcher in den letzten Jahren im hiesigen Laboratorium oft untersucht worden ist (Mester l. c.), zur Verfügung.

Bei der Untersuchung des Harns sind wir auf grosse Schwierigkeiten gestossen. Erstens war es schwer, das Cystin vollständig in den Niederschlag zu bringen und zweitens enthielt der Quecksilberchloridniederschlag immer noch andere Bestandtheile, von welchen das Cystin bezw. das Cystëin schwer getrennt werden konnte.

Zu jedem Versuche wurden 500 cbcm. Cystinharn verwendet, welcher mit 20 cbcm. verdünnter Salzsäure und Zink auf dem Wasserbade behandelt wurde.

Nach dem Filtriren vom Zink wurden die Flüssigkeiten mit Quecksilberchlorid und Natriumacetat in concentrirten Lösungen vermischt und stehen gelassen.

Da sich zeigte, dass die Abscheidung der Quecksilberverbindung des Cystëins im Harn durch die Gegenwart einer grösseren Menge von Natriumacetat begünstigt wird, wurden bei 3 Versuchen steigende Mengen von Natriumacetat verwendet.

1. Versuch: 10 gr. $HgCl_2$ und 8 gr. Natriumacetat.
2. Versuch: 10 gr. $HgCl_2$ und 10 gr. Natriumacetat.
3. Versuch: 10 gr. $HgCl_2$ und 20 gr. Natriumacetat.

Die abfiltrirten Niederschläge und die Filtrate wurden mit Schwefelwasserstoff behandelt und vom Quecksilbersulfid abfiltrirt. Die Flüssigkeiten wurden nach Entfernung des Schwefelwasserstoffs mit Kohlensäure bis auf kleine gleiche Volumina

auf dem Wasserbade verdunstet und durch Kochen mit Bleiacetat und Natronlauge geprüft. Die Resultate waren beinahe gleich, sowohl die Filtate, als die Niederschläge der Quecksilberverbindungen enthielten Schwefel. Dabei ist zu bemerken, dass bei den beiden letzten Versuchen, bei welchen grössere Mengen von Natriumacetat verwendet wurden und der Harn zuvor eingedampft war, das Cystin zum grösseren Theil in den Niederschlag übergegangen war. Bei diesen Versuchen ergab sich also, dass immer noch erhebliche Mengen von Cystin in Lösung geblieben waren. Die völlige Abscheidung des Cystins aus der Flüssigkeit gelang erst, als das vom Quecksilberchlorid befreite Filtrat vom ersten Versuche bis auf ein kleines Volumen verdunstet, mit Zink und Salzsäure aufs Neue behandelt und mit 10 gr. Quecksilberchlorid und 10 gr. Natriumacetat versetzt wurde. Die vom Niederschlag abfiltrirte Flüssigkeit wurde von Quecksilberchlorid befreit und bis auf ein sehr kleines Volumen verdunstet. Die ganze Flüssigkeit gab jetzt beim Kochen mit Bleiacetat und Natronlauge nur Spuren von Schwefelblei.

Dieser Versuch zeigte uns, dass man das Cystin vollständig in den Niederschlag bringen kann. Dabei ist es aber sehr störend, dass bei der Fällung in essigsaurer Lösung auch andere Harnbestandtheile durch das Quecksilberchlorid, unter anderen auch Harnstoff, mitgefällt worden. Es liegt nun die neue Aufgabe vor, aus diesen Fällungen das reine Cystin zu bekommen, was mit grossen Schwierigkeiten verknüpft ist.

Von den vielen Versuchen, welche ich zu diesem Zwecke angestellt habe, will ich nur diejenigen hier schildern, welche zwar zu keinem durchaus befriedigenden Erfolg, aber doch zur Gewinnung von nahezu reinem Cystin geführt haben. Die vereinigten Quecksilberniederschläge wurden mit Schwefelwasserstoff unter Wasser zersetzt, aus dem Filtrat wurde der Schwefelwasserstoff durch Kohlensäure entfernt. Das Filtrat wurde auf dem Wasserbade bis zum Trocknen verdunstet. Der trockene Rückstand wurde mit Alkohol absolutus zerrieben. Nach einigen Stunden oder am folgenden Tage wurde die alkoholische Flüssigkeit abfiltrirt und der Rückstand noch einigemale mit Alkohol extrahirt. Wenn der Rückstand gut

getrocknet und wasserfreier Alkohol angewendet wird, so kann man in der alkoholischen Lösung mit Bleiacetat und Natronlauge nicht mehr als Spuren von Cystin nachweisen. Der nach der Behandlung mit Alkohol gebliebene Rückstand wurde in wenig Ammoniak gelöst, filtrirt, mit dem 10fachen Volumen Weingeist (96 %) vermischt und alsbald von dem entstandenen Niederschlag abgegossen und filtrirt. Der Rückstand wird aufs Neue mit wenig Ammoniak und mit viel Weingeist behandelt. Die vereinigten Filtrate wurden eingedampft, der Rückstand in sehr wenig Ammoniak gelöst, mit der 10fachen Menge Spiritus versetzt und bei gewöhnlicher Temperatur stehen gelassen. Nach dem Verdunsten des Ammoniaks entsteht ein Niederschlag, welcher nach der Schwefelbestimmung 75 % Cystin und 25 % andere Substanzen aufweist. Die Abscheidung des Cystins ist aber keine völlige.

Durch wiederholtes Eindampfen der Flüssigkeit kann man noch ein wenig Cystin bekommen; ein Theil des Cystins aber bleibt immer in der Lösung.

Von der Anwesenheit des Cystins überzeugten wir uns auf Grund der Reaction mit Bleiacetat und Natronlauge.

Die Menge des Cystins in den Niederschlägen beurtheilten wir auf Grund der Schwefelbestimmungen nach der Methode von Carius.

Als wir in der beschriebenen Weise 500 cbcm. Harn verarbeiteten, erhielten wir 0,3343 gr. unreines Cystin.

Die Schwefelbestimmung wurde mit 0,154 gr. ausgeführt, welche 0,2224 gr. $BaSO_4$ lieferten, entsprechend 0,1145 gr. Cystin. Daraus berechnet sich für die in Arbeit genommene Menge Harn (500 cbcm.) ein Gehalt von 0,2485 gr. Cystin und für die Tagemenge (2000 cbcm.) von 0,994 gr. Cystin.

Der Procentgehalt des im Harn gelösten Cystins betrug danach fast genau 0,05 %.

Diese Zahl steht im Einklang mit den Zahlen, welche Mester[1]) über die Löslichkeit des Cystins im Harn angibt. Dass der von uns untersuchte Harn immer eine gesättigte

[1]) Beiträge zur Kenntniss der Cystinurie 1887, Diss.

Cystinlösung darstellte, ergibt sich aus dem Umstand, dass in dem Harn immer einzelne Cystinkrystalle sich abschieden, wenn der Harn kurze Zeit stehen blieb. Diese Zahl, ca. 1 gr. pro Tag, steht auch im Einklang mit den Werthen, welche Mester bei unserem Cystinpatienten früher auf indirectem Wege durch Bestimmung des oxydirten und des nichtoxydirten Schwefels gefunden hat. Wenn es somit auch gelungen ist, annähernd das Cystin aus dem Harn abzuscheiden, so muss doch besonders bemerkt werden, dass das so gewonnene Cystin immer noch verunreinigt war.

Nach dem Verdunsten des Ammoniaks aus der ammoniakalischen Lösung des Cystins entsteht ein schwerer krystallinischer Niederschlag, worin man nur wenige 6seitige Tafeln des gut krystallisirten Cystins erkennen kann. Die Mehrzahl der Krystalle stellt an einander gereihte kugelförmige Gebilde dar, welche immer gelb gefärbt sind.

Bessere Resultate kann man erhalten, wenn der Niederschlag aus der ammoniakalischen Lösung in Salzsäure gelöst, die Flüssigkeit filtrirt und bis zum Trocknen eingedampft wurde, der Rückstand des salzsauren Cystins in Wasser gelöst, mit Natriumacetat versetzt und auf dem Wasserbade langsam verdunstet wurde, dann krystallisirte das Cystin ziemlich gut; obgleich wir sagen müssen, dass auch hierbei nur ein Theil des Cystins krystallisirt, der andere aber in Lösung bleibt.

Wir verkennen nicht, dass auch durch das im Vorstehenden geschilderte Verfahren die Frage der Bestimmung des Cystins im Harn nicht in befriedigender Weise gelöst wird, glauben aber, dass dasselbe, bis eine bessere Methode gefunden wird, sich für gewisse Fälle als brauchbar erweisen wird. Vielleicht ist es noch der Verbesserung fähig.

Einen Theil des im Harn gelösten Cystins gelingt es auch, auf einem einfachen Wege abzuscheiden: Der möglichst weit eingedampfte Harn wird mit ammoniakhaltigem Weingeist 2 Mal extrahirt, dabei geht das Cystin so gut wie völlig in die weingeistige Lösung. Versetzt man letztere mit dem 3—4 fachen Volum Aether, so entsteht eine syrupdicke Abscheidung, in welcher ein erheblicher Theil des Cystins sich findet. Dieses

wird, nachdem die Alkohol- und Aether-Mischung abgegossen ist, in Ammoniak gelöst. Beim Verdunsten der ammoniakalischen Lösung wird Cystin (wieder in undeutlich ausgebildeten Krystallen) abgeschieden. Dieses Verfahren lässt aber nur einen Theil des im Harn enthaltenen Cystins gewinnen und eignet sich nicht als quantitative Methode.

Nachdem Baumann und v. Udránszky[1]) bei Cystinurie die Diamine in Harn und Fäces gefunden haben und dieses Zusammentreffen in zwei anderen Fällen durch Brieger und Stadthagen[2]) später bestätigt worden ist, war es interessant, in diesem Falle die Untersuchung der Fäces zu wiederholen, welche früher von Baumann und v. Udránszky[3]), später von García[4]) bei demselben Patienten ausgeführt worden ist.

Folgende Tabelle gibt die Zahlen der gefundenen Mengen der Dibenzoylverbindungen der Diamine in den Fäces.

	Menge des Harns pro Tag.	Specifisches Gewicht.	Reaction des Harns.	Menge des Cystins.	Menge der Diamine in Fäces in Form der Dibenzoylverbindungen.
1. Tag.	2000	1,020	saure	0,994 gr.	} 3,892 gr.
2. »	1700	1,016	neutrale	—	
3. »	2400	1,010	neutrale	—	23,21 »
4. »	1500	1,017	alkalische	—	2,034 »

Wir bestimmten die Diamine nach den Methoden von Baumann und v. Udránszky. Bei der von ihnen angegebenen Trennung der Dibenzoylverbindungen der Diamine ergab sich, dass beinahe ausschliesslich Putrescin (Schmelzpunkt der Benzoylverbindung 170°) und nur Spuren von Cadaverin vorhanden waren.

Baumann und v. Udránszky fanden in den Fäces dieses Kranken im Jahre 1888 pro Tag im Mittel — 1,545 gr.

[1]) Zeitschrift f. physiol. Chemie, J. 1889, Bd. XIII, S. 562. Zeitschrift f. physiol. Chem., J. 1891, Bd. XV, S. 77.

[2]) Berliner klinisch. Wochenschrift, J. 1889, Nr. 16.

[3]) L. c.

[4]) Zeitschrift f. physiol. Chemie, J. 1893, Bd. VII, S. 577.

Dibenzoylverbindungen; im Jahre 1891 — 1,557 gr., welche zum grösseren Theil aus Putrescin (95,2 %) und nur ein wenig aus Cadaverin (4,8 %) bestanden. García fand im Jahre 1892 bei verschiedenen Diäten ganz verschiedene Werthe: bei gewöhnlicher Nahrung 1,1349 gr., bei Zugabe von Käse zu der gewöhnlichen Diät 1,3918 gr. und bei kohlenhydratreicher Nahrung 0,741 gr. Dibenzoylverbindungen pro Tag, welche nur aus Putrescin bestanden. Wir haben (Ende des Jahres 1893) etwas grössere Werthe gefunden — 2,061 gr. pro Tag, was wahrscheinlich von der Diät und von der Intensität der Fäulniss im Darm abhängt, wofür auch einzelne Werthe von Baumann und v. Udránszky und von García sprechen, welche in einigen Tagen die Menge der Dibenzoylverbindungen aus den Fäces beinahe bis auf 3 gr. (2,856 gr.) steigen sahen.

Zur Kenntniss der in den Membranen der Pilze enthaltenen Bestandtheile.

I. Abhandlung.

Von

E. Winterstein.

(Aus dem agricultur-chemischen Laboratorium des Polytechnikums in Zürich.)

(Der Redaction zugegangen am 9. Mai 1894.)

Obgleich über die Zellmembranen der Pilze schon verschiedene Untersuchungen angestellt worden sind, so besitzen wir doch zur Zeit keine genauen Kenntnisse über die chemischen Bestandtheile dieser Zellwandungen. Es schien desshalb wohl wünschenswerth, eine diesbezügliche Untersuchung in Angriff zu nehmen, umsomehr als durch die Untersuchungen von E. Schulze[1]) und R. Reiss[2]) dargethan worden ist, dass diejenige Substanz, welche die Botaniker schlechtweg als Cellulose bezeichnet haben, kein einheitlicher Körper ist und man daher für die Grundsubstanz der Pilzmembranen etwas Aehnliches erwarten durfte.

Eingangs dieser Arbeit scheint es zweckmässig, einen kurzen historischen Ueberblick über die bisher über diesen

[1]) Zur Chemie der pflanzlichen Zellmembranen. Diese Zeitschrift, I. Abhandlung, Bd. 14, S. 227; II. Abhandlung, Bd. 16, S. 387.

[2]) Ueber die Natur der Reservecellulose, Landwirthschaftliche Jahrbücher, Bd. 18, S. 711.

Gegenstand gemachten Untersuchungen und den dabei gewonnenen Resultaten zu geben.

Als einer der ersten, welcher sich mit der chemischen Beschaffenheit der Pilze beschäftigt hat, darf wohl M. Braconnot[1]) bezeichnet werden. Derselbe gibt an, dass alle Pilze eine und dieselbe Grundsubstanz enthalten, welche den Hauptbestandtheil derselben ausmachen. Diese Substanz, welche nach Entfernung fremder Bestandtheile, durch Extraction der Pilze mit kochendem Wasser und verdünnter Lauge, als eine mehr oder weniger weisse, weiche, elastische, geschmacklose Masse zurück bleibt, bezeichnet Braconnot mit dem Namen Fungin. Dasselbe gibt bei trockner Destillation empyreumatische, sauer reagirende Flüssigkeiten, von verdünnten Alkalien wird es nicht angegriffen, mit verdünnter Salzsäure erwärmt gibt es eine Gallerte.

Nachdem Payen durch seine grundlegenden Arbeiten nachgewiesen hatte, dass in den Zellwandungen der Phanerogamen eine Grundsubstanz von der Formel $C_6H_{10}O_5$ enthalten ist, welche die von H. von Mohl[2]) beobachtete Blaufärbung mit Jod und Schwefelsäure zeigt, zog er auch einige Kryptogamen in Bereich seiner Untersuchungen[3]). Bei der Elementaranalyse einiger Präparate, bei deren Darstellung er die Ausgangsmaterialien mit Aether, Alkohol, Säuren, Lauge extrahirte, erhielt er folgende Resultate[4]):

Präp. aus Agaricus edulis:		Präp. aus Boletus igniarius:	
C . .	44,52 %.	C . .	43,40 %.
H . .	6,67 »	H . .	6,11 »
O . .	48,81 »	O . .	50,49 »

Da diese Zahlen ziemlich gut auf die Formel $C_6H_{10}O_5$ stimmen, schliesst Payen, dass das von Braconnot aufgestellte Fungin nicht bestehe, sondern, dass sich aus den Pilzen durch zweckmässige Behandlung derselben Cellulose gewinnen lässt.

---

1) Journal de Physique, 1811, T. 73, S.

2) Vermischte Schriften 1846, XXV.

3) Annales des sciences naturelles, Serie 2, T. II, p. 21.

4) Mémoire sur les développements des végétaux.

Zu ähnlichen Resultaten gelangte Fromberg[1]) bei Analyse eines aus Agaricus albus, nach der von Payen angegebenen Weise, dargestellten Präparats:

C . . . 45,28 %.
H . . . 6,27 »
O . . . 48,45 »

Ein Präparat, welches wiederholt mit den oben angegebenen Mitteln behandelt worden war, lieferte ihm folgende Zahlen:

C . . . 43,95 %.
H . . . 6,21 »
O . . . 49,44 »

Aehnliche Ergebnisse erhielten auch J. Schlossberger und O. Doepping[2]). Die Präparate, welche sie zur Analyse verwendeten, waren durch Behandlung der zerkleinerten Ausgangsmaterialien mit heissem Wasser, verdünnter Kalilauge, Salzsäure und Alkohol dargestellt. Sie erhielten folgende Resultate:

	Polyporus fomentarius.		Polyporus destructor.		Daedalea quercina.	
	I.	II.	I.	II.	I.	II.
C . .	45,42 %	45,32 %	43,93 %	43,90 %	45,58 %	45,46 %
H . .	6,80 »	6,84 »	6,69 »	6,62 »	6,27 »	6,36 »
O . .	—	—	—	—	—	—

Auch Kaiser[3]) hat für ein aus Amanita muscaria ähnliche Resultate erhalten.

Obgleich man nach diesen Untersuchungen annehmen musste, dass die chemische Zusammensetzung der Grundsubstanz der Pilzmembranen eine ähnliche sei wie diejenige der Cellulose der Phanerogamen, so ergab sich doch, dass die Zellmembranen der Pilze auch nach Behandlung mit Kalilauge und darauffolgendem Digeriren mit einem Gemisch von Kalium-

[1]) Mulder, Allgemeine physiologische Chemie, Braunschweig 1851, S. 203; Scheikundige Onderzockingen, Deel. II, p. 52.

[2]) Annalen der Chemie u. Pharm., Bd. 52, S. 106.

[3]) De Bary, Morphologie und Biologie der Pilze und Flechten.

chlorat und Salpetersäure, die für Cellulose charakteristische Blaufärbung mit Jod und Schwefelsäure nicht zeigten[1]) und dass sie sich auch in den meisten Fällen als unlöslich in Kupferoxydammoniak erwiesen. De Bary[2]) unterschied daher jene Grundsubstanz als eine besondere Form der Cellulose und bezeichnete sie als Pilzcellulose.

Zur Erklärung des abweichenden Verhaltens der Pilzcellulose nimmt Dippel[3]) an, dass der Zellstoff bei den Pilzen in einem sozusagen rudimentären Zustande bleibt, indem nach seinen Beobachtungen auch die Membranen ganz junger Zellen der Phanerogamen die Zellstoffreaction nicht zeigten.

Es ist bekannt, dass Fremy[4]) bei seinen Untersuchungen der Zellwandbestandtheile zum Resultate gelangte, dass die Grundsubstanz der Pflanzengewebe keine einheitliche ist und dass man die Existenz mehrerer Cellulosen anzunehmen habe. Die am Gewebe des Champignons gemachte Beobachtung, dass dasselbe auch nach Einwirkung von Salzsäure in Kupferoxydammoniak unlöslich ist, veranlasste ihn zur Aufstellung einer besonderen Modification der Cellulose der Pilze, welche er Metacellulose nannte.

Gegen die Annahme einer besonderen Modification der Cellulose bei den Pilzen trat C. Richter[5]) mit Entschiedenheit auf. Derselbe machte die Beobachtung, dass ein Polyporus (einer nicht näher bestimmten Species), ferner Polyporus fomentarius, welche mit Aether, Alkohol, heissem Wasser und Säuren und dann mehrere Wochen mit 7—8proc. Lauge behandelt worden waren, die Blaufärbung mit Chlorzink-

---

[1]) Vergl. Schacht, die Pflanzenzelle 1852, S. 9.

[2]) De Bary, Morphologie und Biologie der Pilze und Flechten, Leipzig 1884, S. 9.

[3]) Das Mikroskop II, S. 7—8, C. Richter (vergl. unten) hat jedoch gezeigt, dass die Zellstoffreaction eintritt, wenn man die Gewebe mit Salzsäure oder Kalilauge behandelt.

[4]) Jahresbericht 59, S. 529.

[5]) Beiträge zur genaueren Kenntniss der chemischen Beschaffenheit der Zellmembran bei den Pilzen, Sitzungsberichte der Academie der Wissensch. zu Wien, Bd. 83, I, S. 494.

jod zeigten, bei Daedalea quercina und Mutterkorn, welche längere Zeit in Kalilauge gelegen hatte, constatirte Richter Violettfärbung mit Chlorzinkjod. Desgleichen gelang ihm die Reaction auch bei Agaricus campestris, der im frischen Zustand 2—3 Wochen mit Kalilauge in Berührung gewesen war, währenddem der getrocknete Pilz bei gleicher Behandlung keine Zellstoffreaction gab und die Reaction auch nach Kochen frischer Stücke des erwähnten Pilzes mit Kalilauge ausblieb. Dieser Umstand soll nach Richter's Ansicht darauf hindeuten, «dass das nunmehr coagulirte Eiweiss sowohl der Zerstörung durch Kali, als der Einlagerung von Jod in die Zellmembran Widerstand leistet[1])». Richter spricht sich am Schlusse seiner Abhandlung dahin aus, dass eine Pilzcellulose im Sinne De Bary's nicht existire, da es ihm gelang, bei einer Anzahl von Pilzen, deren Untersuchung den genannten Forscher zur Aufstellung der Pilzcellulose veranlasste, die Reactionen des gewöhnlichen Zellstoffs zu erzielen. Die Pilzcellulose ist nach seiner Aussage nichts anderes als gewöhnliche Cellulose mit fremden Beimengungen (in erster Reihe möglicherweise Eiweisskörper). Trotz dieses Befunds hält De Bary in seiner II. Auflage seines Werkes «Morphologie und Biologie der Pilze» die Bezeichnung Pilzcellulose aufrecht[2]).

An die Frage, ob die Membranen der Pilze eine einheitliche Substanz sei, trat wohl zuerst Füisting[3]) heran. Derselbe gelangte auf Grund der verschiedenen Färbungserscheinungen mit Jod zum Resultat, dass die Schlauchmembran der Verrucarien aus 2 isomeren in verschiedener Menge vorhandenen Verbindungen, von denen eine mit Jodwasser durch eigenthümliche Einlagerung von Jod roth gefärbt, während die andere infolge anderer Anordnung des eingelagerten Jods sich bläut. Die definitive Färbung ist das resultirende der Farben zweier Verbindungen und ist je nach dem Ueberwiegen der einen oder anderen eine rothe oder blaue.

---

[1]) Richter, loc. cit., S. 507.
[2]) Loc. cit., S. 14.
[3]) Botanische Zeitung 1868, S. 661.

Auch von W. Hoffmeister[1]) liegen Untersuchungen über diese Frage vor. Da derselbe nach der von ihm beschriebenen Methode aus zerriebenen Pilzen (Boletus edulis) nicht zu filtrirende, dickschleimige Massen erhielt, schlug er zur Isolirung des Zellstoffs aus genanntem Material folgenden Weg ein: Die unentfetteten, unzerkleinerten Pilze wurden mit einer kaltgesättigten Lösung von Kaliumchlorat übergossen und in das Gemenge allmälig kleine Mengen Salzsäure zugefügt, bis die Pilze weiss erschienen, darauf wurden sie ausgewaschen und mit kaltem Ammoniak behandelt. Er erhielt auf diese Weise hornartige Massen, welche noch 2 % Stickstoff enthielten. Der grösste Theil des erhaltenen Präparats löste sich in 5 proc. Natronlauge auf; aus dieser Lösung wurde auf Zusatz von Salzsäure und Alkohol eine lockere, voluminöse Masse erhalten. Der in Natronlauge unlösliche Theil löste sich vollständig in Salzsäure auf; aus dieser Lösung wurde auf Zusatz von Wasser ein stickstofffreier Körper von der Formel $C_{13}H_{22}O_{10}$ erhalten. W. Hoffmeister unterscheidet so eine pulverige und eine voluminöse Form des Zellstoffs des Steinpilzes. Keine Form der gewonnenen Pilzfaser gab die Blaufärbung mit Jod und Schwefelsäure und es erwiesen sich alle in Kupferoxydammoniak unlöslich. Als specifische charakteristische Eigenschaft für die Steinpilzcellulose hebt Hoffmeister ihre Löslichkeit in Salzsäure und die vollkommene Löslichkeit in Natronlauge hervor und gibt dieses Verhalten als wichtiges Unterscheidungsmoment an, welches ihr der gewöhnlichen Cellulose gegenüber eine Sonderstellung anweist.

Die bisher gemachten Angaben beziehen sich auf die höheren Pilze. Ueber die Untersuchung niederer Pilze besitzen wir nur wenige zuverlässige Angaben. Die älteste diesbezügliche Angabe findet sich in der «Allgemeinen Physiologie von Mulder[2])». Derselbe sagt, die Hefecellulose ist eine besondere, mit der gewöhnlichen Cellulose nicht zu verwechselnde

---

[1]) Die Rohfaser und einige Formen der Cellulose. Landwirthschaftl. Jahrbücher 1888, S. 239.

[2]) Loc. cit., S. 315. Scheikundige Onderzoekingen, Deel. II, S. 409.

Substanz, welche durch Jod und Schwefelsäure braun gefärbt wird.

Auch J. Schlossberger[1]) beschäftigte sich mit der Zellmembran der Hefe. Es gelang ihm, aus der Hefe durch wiederholte Behandlung mit Kalilauge und Essigsäure eine Substanz zu isoliren, welche noch 0,5 % Stickstoff enthielt und mit Jod gelb gefärbt wurde; dieselbe stimmte in ihrer Zusammensetzung mit derjenigen der gewöhnlichen Cellulose überein, wie aus nachstehenden Zahlen zu ersehen ist:

	I.	II.
C . . .	45,04 %.	43,45 %.
H . .	6,60 »	6,87 »

Nach diesem Befund spricht Schlossberger aus, dass die Grundsubstanz der Zellmembranen der Hefe in ihrem chemischen Charakter mit der gewöhnlichen Cellulose übereinstimmt.

Nach Nägeli und Löw[2]) wird die Membran der Bierhefe (Saccharomyces Cerevisiae) durch wiederholtes Kochen mit Wasser in einen Schleim übergeführt, welcher, bei 110° getrocknet, eine der Formel $3\ C_6H_{10}O_5 . H_2O$ entsprechende Zusammensetzung besitzt.

Von Nägeli[3]) besitzen wir auch eine weitere Untersuchung über die Essigmuttermembran (Mycoderma aceti). Er konnte aus der Essigmutter durch Behandeln derselben mit Natronlauge und Salzsäure eine röthliche, häutige Masse isoliren, welche sich in Kupferoxydammoniak langsam löste und mit Schwefelsäure in Zucker umgewandelt wurde.

W. Hoffmeister[4]) konnte aus einem selbstgezüchteten Bacillus durch Digeriren mit Kaliumchlorat und Salzsäure und darauffolgender Behandlung mit Ammoniak und Natronlauge

---

[1]) Annalen d. Chem u. Pharm., Bd. 51, S. 207. Ueber die Natur der Hefe.

[2]) Journal f. prakt. Chem., N. Folge, 1878, S. 403. Ueber die chemische Zusammensetzung der Hefe.

[3]) Loc. cit., S. 422.

[4]) Loc. cit.

kleine Quantitäten einer Substanz isoliren, welche die Cellulosereaction gab.

In einer Arbeit neueren Datums gibt M. Brown[1]) an, dass die Membranen eines rein gezüchteten Essigferments, des Bacterium xylinums, aus Cellulose bestehen. Dieselbe soll durch Schwefelsäure in eine Zuckerart übergeführt werden. Da diese Zuckerart die Polarisationsebene nach rechts ablenkt und alkalische Kupferlösung eben so stark reducirt wie Traubenzucker, hält Brown das Inversionsproduct dieser Cellulose für Dextrose.

E. Salkowski[2]) erhielt aus den Zellwandungen der Hefe durch Behandlung derselben mit einer Reihe von Reagentien, unter denen jedoch die Säuren ausgeschlossen waren, eine Substanz, welche mit verdünnten Säuren einen rechtsdrehenden, gährungsfähigen Zucker liefert. Da diese Substanz im Verhalten gegen verdünnte Säuren vollkommen verschieden von der gewöhnlichen Cellulose ist, schlägt der Genannte vor, dieselbe mit dem Namen Membranin zu bezeichnen.

Kurz vor meiner in den Berichten der deutschen botanischen Gesellschaft gemachten vorläufigen Publikation[3]) «Ueber die Pilzcellulose» erschien eine Abhandlung von E. Gilson[4]); in derselben erklärt der Genannte auf Grund von Versuchen, welche er mit Mucor vulgaris, Thamnidium vulgare, Agaricus campestris und einem nicht genau bestimmten Pilz angestellt hat, dass die Membranen der Pilze wahrscheinlich keine Cellulose enthalte, oder dass doch, falls letztere vorhanden ist, sie sich in einem Zustand vorfindet, welcher verschieden ist von demjenigen, in welchem man sie in den Membranen der anderen Vegetabilien antrifft.

Es sei noch erwähnt, dass A. Tschirch in seinem Handbuch der angewandten Pflanzenanatomie die die Cellulose-

---

[1]) Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. 19, Referate S. 463. Chemical Society 1886, I, S. 432 und 1887, I, S. 643.

[2]) Verhandlungen der Physiologischen Gesellschaft zu Berlin, 1889—90, Nr. 12.

[3]) Bd. XI, S. 441.

[4]) La cristallisation de la cellulose et la composition chimique de la membrane cellulaire végétale. Extrait de la revue. La Cellule t. IX.

reaction gebende Grundsubstanz der Pilzmembranen mit dem Namen Mycin bezeichnet[1]).

Kurze Zeit nach meiner oben erwähnten Publikation veröffentlichte J. Dreyfuss eine Arbeit unter dem Titel «Ueber das Vorkommen von Cellulose in Bacillen, Schimmel- und anderen Pilzen»[2]). Ausgehend von dem Gedanken, dass die von verschiedenen Forschern erhaltenen Resultate bezüglich der Grundsubstanz der Pilzmembran desshalb nicht einwurfsfrei sind, weil dieselben die zur Untersuchung benutzten Objecte ungenügend von anderen, den Zellwandungen nicht angehörigen Stoffen befreit hatten, verwendet Dreyfuss zur Isolirung der Cellulose aus Pilzen und Bacterien die von F. Hoppe-Seyler in dieser Zeitschrift[3]) in Vorschlag gebrachte Methode. Es gelang dem Genannten, nach diesem Verfahren aus einigen Pilzen und Bacterien Substanzen zu isoliren, welche sich in Kupferoxydammoniak und Schwefelsäure lösten.

Die mit Wasser verdünnten Lösungen der gewonnenen Präparate in Schwefelsäure gaben nach dem Kochen und Entfernen der Säure Flüssigkeiten, welche die Fehling'sche Lösung reducirten und mit essigsaurem Phenylhydrazin Osazone lieferten, welche unter dem Mikroskop das Aussehen des Dextrosazons zeigten; auf Grund dieser Versuchsergebnisse schliesst Dreyfuss, dass die bei Hydrolyse entstandene Zuckerart Traubenzucker ist und dass sämmtliche zur Untersuchung gekommenen Pilzarten, sowohl die höheren, grosse Mycelverbände bildenden, als auch besonders jene kleinsten Lebewesen, die Bacterien, Cellulose enthalten und zwar im Sinne E. Schulze's «ächte» Cellulose, d. h. solche, die sich in verdünnter Mineralsäure nicht löst.

Der im Vorigen gegebene historische Ueberblick lässt erkennen, dass trotz der grossen Anzahl der vorliegenden Arbeiten die Frage nach der Natur der in den Membranen

---

[1]) Seite 191.

[2]) Diese Zeitschrift, Bd. 18, S. 358.

[3]) Bd. 13, S. 84. Ueber die Bildung von Huminsubstanzen.

der Pilze sich vorfindenden Bestandtheile keineswegs beantwortet ist. Ich habe mich daher veranlasst gesehen, diesen Gegenstand einer erneuten Untersuchung zu unterziehen.

Als Material für meine Untersuchungen verwendete ich folgende Objecte: Boletus edulis (Steinpilz), Agaricus campestris (Champignon), Cantharellus cibarius (Pfifferling), Morchella esculenta (Spitzmorchel), Polyporus officinalis (Lärchenschwamm), Penicillium glaucum, Botrytis, einen nicht genauer bestimmten Boletus und einen Lactarius unbekannter Species.

Es sei gleich hier bemerkt, dass ich die von mir dargestellten Präparate nach dem Vorgange de Bary's[1]) als Pilzcellulose bezeichnen will.

Im Folgenden mache ich nun zunächst Mittheilung über die Art und Weise, in welcher ich die aufgezählten Objecte verarbeitete.

Darstellung der Pilzcellulosepräparate.

Die meisten der von mir benutzten Objecte wurden vor der Verarbeitung getrocknet und zerkleinert, einige hingegen verarbeitete ich im frischen Zustand.

Die Darstellung der Präparate geschah nach zwei ihrem Wesen nach ganz verschiedenen Verfahren. Erstens durch Behandlung der mit verschiedenen Extractionsmitteln behandelten Materialien mit einem Oxydationsgemisch, als solches kam entweder das F. Schulze'sche Reagens oder das in neuerer Zeit von W. Hoffmeister[2]) empfohlene Gemisch von Kaliumchlorat und 10 proc. Salzsäure in Anwendung. Zweitens verfuhr ich nach der von F. Hoppe-Seyler[3]) in dieser Zeitschrift beschriebenen, später auch von G. Lang[4]) und J. Dreyfuss[5]) benutzten Methode, welche darin besteht, dass die zuvor mit verschiedenen Extractionsmitteln erschöpften

---

[1]) Loc. cit.
[2]) Loc. cit.
[3]) Loc. cit.
[4]) Zur quantitativen Bestimmung der Cellulose, Bd. 14, S. 283
[5]) Loc. cit.

Materialien mit Kalihydrat unter Zusatz von etwas Wasser eine Stunde auf 180° erhitzt werden; dass man sodann aus der Schmelze die Cellulose gewinnt, indem man die letztere mit Wasser behandelt, die Lösung mit Schwefelsäure nahezu neutralisirt und die dabei ungelöst bleibende Cellulose auf ein Filter sammelt.

Alle die oben erwähnten Pilze wurden, um sie der Einwirkung der Oxydationsgemische oder der Kalihydrate zugänglicher zu machen, vorher mit Aether, Alkali, Wasser und verdünnten warmen Säuren extrahirt, diese Vorbereitung war für die getrockneten Pilze die gleiche. Auch die Behandlung der dabei verbliebenen Rückstände war bei den verschiedenen Materialien im Wesentlichen dieselbe. Da aber die verschiedenen Objecte sich nicht genau gleich verhielten, so ist es nöthig, im Folgenden einige Angaben darüber zu machen, wie in den einzelnen Fällen verfahren wurde. Im Folgenden beschreibe ich nun die Darstellung der Präparate aus Boletus edulis. In Bezug auf die anderen Präparate kann ich mich kurz fassen, ist nur nöthig anzugeben, inwieweit bei diesen Objecten von der bei Boletus edulis angegebenen Methode abgewichen wurde.

I. Boletus edulis[1]). Der Pilz wurde zuvörderst, um ihn leichter pulverisiren zu können, längere Zeit bei einer Temperatur von circa 60° getrocknet, dann in einem Mörser grob zerstossen und schliesslich auf einer Mühle fein gemahlen; das Pulver wurde nun zunächst in der Kälte mehreremals mit Aether extrahirt und darauf in einem Torner'schen Apparat möglichst vollständig entfettet[2]). Das entfettete Pulver wurde nun in einem mit Rückflusskühler versehenen Kupferkessel mehrere Stunden mit 80—90 proc. Alkohol gekocht, der dabei entstandene braun gefärbte Extract abfiltrirt und der bei dieser Extraction verbliebene Rückstand durch Ab-

[1]) Ich erhielt diesen Pilz in 3 verschiedenen Portionen im getrockneten Zustande von einem Handelshause in Moskau.

[2]) Aus dem ätherischen Extract habe ich eine in seidenglänzenden Nadeln krystallisirende Substanz abscheiden können, die in ihrer Zusammensetzung und Eigenschaften den Cholesterinen nahesteht.

pressen vom Alkohol befreit und darauf noch einige Male auf angegebene Weise extrahirt und zuletzt noch mit 60 proc. Weingeist ausgekocht. Das so vorbereitete Pulver wurde sodann in mehrere hohe Cylinder vertheilt, erst einige Male mit lauwarmem und darauf so lange mit kaltem Wasser durch Decantation ausgewaschen, bis die Flüssigkeiten farblos wurden. Auf diese Weise gelang es, den grössten Theil eines braunen Farbstoffs zu entfernen. Behufs Entfernung der Eiweissstoffe wurde das Ungelöste sodann mit kalter 1 proc. Natron- oder Kalilauge unter ständigem Umrühren in Berührung gelassen, darauf mit Wasser durch Decantation ausgewaschen und auf angegebene Weise noch einmal mit $1^{1}/_{2}$—2 proc. Lauge digerirt, nachdem das Alkali durch Auswaschen vollständig entfernt worden war, wurde der bei dieser Behandlung verbliebene Rückstand mit sehr verdünnter Salzsäure in der Kälte längere Zeit digerirt, um die Aschenbestandtheile noch möglichst zu entfernen.

Die auf solche Weise vom Fett, Farbstoffen, löslichen Kohlenhydraten und sonstigen Stoffen befreiten Rückstände, welche etwa 30 % vom Gewicht des Ausgangsmaterials betrugen, mussten der Hauptsache nach aus den Zellwandungen der verwendeten Pilze bestehen und konnte demnach vielleicht noch andere Zellwandbestandtheile einschliessen.

Ich versuchte nun zuerst die in verdünnten Säuren löslichen Bestandtheile der Zellmembranen, die Hemicellulosen, zu entfernen; zu diesem Zweck digerirte ich den oben erwähnten Rückstand mit $2^{1}/_{2}$ proc. Schwefelsäure einige Stunden auf dem Wasserbade, hierbei bildete sich eine ausserordentlich schleimige, dickflüssige Masse, welche erst nach dem Verdünnen mit grossen Quantitäten von Wasser vom ungelösten Theil des Rückstandes durch Filtriren getrennt werden konnte; ohne des Näheren hier zu erwähnen, will ich jetzt schon bemerken, dass ich aus dieser schleimigen Lösung einen Stoff abscheiden konnte, welcher als ein Kohlenhydrat angesehen werden kann; dasselbe bildet wahrscheinlich den Bestandtheil der schleimigen Pilzmembran[1]).

---

[1]) De Bary, Morphologie und Biologie der Pilze, S. 10.

Ob daneben noch Zellwandbestandtheile vorhanden waren, die durch heisse verdünnte Mineralsäuren leicht gelöst und invertirt werden, weiss ich nicht; die von der schleimigen Flüssigkeit getrennten Flüssigkeiten enthielten zwar Glucosen, dieselben konnten aber durch partielle Inversion des erwähnten Kohlenhydrats entstanden sein.

Der vom Schleim getrennte und bis zur neutralen Reaction mit kaltem Wasser ausgewaschene Rückstand wurde vor dem Trocknen mit Alkohol und Aether behandelt und nach dem Trocknen ein Theil nach dem Macerationsverfahren von F. Schulze, ein anderer Theil nach Hoffmeister behandelt. Im ersten Falle übergoss ich denselben mit der 12fachen Menge Salpetersäure vom specifischen Gewicht 1,05, setzte allmälig 0,8 Theile Kaliumchlorat hinzu und liess die Mischung 14 Tage bei Zimmertemperatur stehen. Es hatte sich hierbei eine schleimige, hellgelbe Masse gebildet, welche auf Zusatz von Wasser ausserordentlich aufquoll und desshalb, erst nachdem ich dieselbe in mehrere hohe Cylinder vertheilt, durch Decantation ausgewaschen werden konnte. Ich will hier bemerken, dass das Auswaschen so grosser Quantitäten von Materialien, wie ich sie verarbeitete, eine ausserordentlich mühsame und langwierige Operation ist; es gelang erst nach 10—14 Tagen, die Flüssigkeit vollständig von der Säure zu befreien. Nachdem dies geschehen war, digerirte ich den Rückstand, ohne ihn vorher zu trocknen, mit verdünntem Ammoniak ½ Stunde bei 60° (50 cbcm. concentrirtes NH_3 auf 1 Liter). Das Ammoniak wurde sodann durch Auswaschen mit kaltem Wasser entfernt, was eben soviel Zeit und Geduld erforderte, wie das Entfernen der Säure[1]). Nachdem nun das Ammoniak ausgewaschen war, brachte ich die voluminöse, schleimige Masse auf ein Filtrirtuch, wusch mit etwas verdünnter Salzsäure aus, um die Aschenbestandtheile zu entfernen, und übergoss den Filterinhalt sodann einige Male mit destillirtem Wasser, behandelte darauf mit 95 proc. Alkohol und liess nun die Masse einige Tage unter absolutem Alkohol stehen[2]),

[1]) Die Massen sind ausserordentlich quellbar und schleimig.

[2]) Diese Behandlung ist nöthig, um ein leicht pulverisirbares Material zu erhalten.

darauf wurde vom Alkohol abgepresst und mit absolutem Aether ausgewaschen und schliesslich über Schwefelsäure getrocknet.

Einen anderen Theil des erwähnten Rückstandes verarbeitete ich, wie bereits oben gesagt, nach der Hoffmeister'schen Methode wie folgt: Der Rückstand wurde mit Salzsäure vom specifischen Gewicht 1,05 zu einem dickflüssigen Brei angerührt und zu dieser Mischung soviel Kaliumchlorat hinzugefügt, dass ein Theil ungelöst blieb; nach 24 Stunden war die Masse durch und durch gelb geworden, sie wurde nun in der oben angegebenen Weise von der Säure befreit. Auch hier traten wieder die gleichen Schwierigkeiten auf, sodass W. Hoffmeister angibt, man könne Cellulospräparate auf diesem Wege überhaupt nicht gewinnen; wenn ich dieses nicht als zutreffend anerkennen kann, so ist es doch richtig, dass die Darstellung der Präparate sehr viel Mühe macht. Die von der Säure befreite weisse Masse wurde wie angegeben mit verdünntem Ammoniak behandelt und im Uebrigen so verfahren wie im ersten Falle.

II. Polyporus officinalis. Anfangs verwendete ich ein von einer hiesigen Droguenhandlung im gemahlenen Zustand geliefertes Object. Die Vorbereitung geschah nach dem bei Boletus beschriebenen Verfahren. Der bei Extraction mit den verschiedenen Agentien verbliebene Rückstand wurde zuerst nach dem Macerationsverfahren von F. Schulze verarbeitet, darauf wie angegeben mit Ammoniakflüssigkeit behandelt, da aber das gewonnene Präparat trotz dieser Behandlung noch dunkel gefärbt war, digerirte ich dasselbe noch einmal mit Kaliumchlorat und 10 proc. Salzsäure und behandelte nach dem Entfernen der Säure mit Ammoniak wie angegeben und verfuhr im Uebrigen wie im ersten Falle.

Da ich aber nicht ganz sicher war, ob dem käuflichen, gemahlenen Product nicht Holztheilchen beigemengt waren, verschaffte ich mir ein grosses Exemplar des genannten Pilzes, trennte die äussere braune Partie ab und verwendete nur das ganz weisse homogene Stück, welches nicht von Wurzeln oder Holztheilchen durchsetzt war. Dieses Product verhielt

sich wesentlich anders: Der bei Behandlung mit Aether, Lauge und Säure verbliebene Rückstand war schon nach 48stündiger Maceration mit Kaliumchlorat und 10proc. Salzsäure durch und durch gelb geworden und nach dem Auswaschen mit Wasser und Behandeln mit Ammoniakflüssigkeit erhielt ich ein nur wenig gefärbtes Präparat.

III. Agaricus campestris, Morchella esculenta[1]) und die beiden anderen nicht genauer bestimmten Lactarius und Boletusarten[2]) wurden genau so wie bei Boletus edulis vorbereitet und die verbliebenen Rückstände mit dem Hoffmeister'schen Chlorgemisch 24—36 Stunden in Berührung gelassen und im Uebrigen wie bei Boletus angegeben behandelt.

IV. Eine Portion von Agaricus campestris wurde auch im Hinblick auf die Angaben Richter's, nach welchen die Membranen des im frischen Zustande mit Kalilauge längere Zeit behandelten Pilzes mit Chlorzinkjod blau gefärbt werden, während solches bei getrockneten nicht der Fall sein soll, im frischen Zustand verarbeitet. Ich verfuhr dabei folgendermassen: 450 gr. des frischen Pilzes wurden, um die äusserlich anhaftenden Sandpartikelchen zu entfernen, mit Wasser abgespült, darauf mit einem Messer in kleine Stücke zerschnitten. Letztere übergoss ich mit ca. 1,5 Liter 9proc. Kalilauge und liess das Gemenge 1 Woche bei Zimmertemperatur stehen, darauf wurde die alkalische Flüssigkeit durch Glaswolle vom Rückstand abfiltrirt und letzterer noch einmal mit der gleichen Menge Lauge angegebener Concentration 1 Woche digerirt, darauf verdünnte ich mit 3 Liter Wasser und liess noch mehrere Tage stehen, dann wurde mit kaltem Wasser durch Decantation ausgewaschen und die verbliebene Masse, ohne sie vorher zu trocknen, nach Hoffmeister behandelt[3]), nachdem die Säure durch Auswaschen vollständig entfernt worden war, digerirte ich den Rückstand mit Ammoniakflüssigkeit (120 cbcm. concentrirtes Ammoniak auf 1 Liter) 1 Stunde

---

[1]) Diese Objecte lieferte mir eine hiesige Delicatessenhandlung.

[2]) Dieselben hatte ich selbst gesammelt.

[3]) Da die Massen ausserordentlich wasserhaltig waren, wurde in diesem Falle eine Säure vom specif. Gewicht 1,12 angewendet.

bei 70—80°; der vom Ammoniak zuerst durch Decantation, dann auf einem Filter durch Auswaschen mit Wasser befreite Rückstand wurde, um noch Aschenbestandtheile zu entfernen, mit verdünnter Salzsäure übergossen, darauf mit destillirtem Wasser ausgewaschen, die vom Wasser abgepresste Masse mit 95proc. Alkohol einige Male ausgezogen und schliesslich noch unter Aether gebracht.

V. Penicillium glaucum. Da es für meine Zwecke einer grösseren Quantität des Ausgangsmaterials bedurfte, bereitete ich mir zunächst in bekannter Weise eine Reincultur und übertrug dieselbe in eine grosse Anzahl 2-Literkolben, welche mit sterilisirter Nährlösung beschickt waren[1]). Als nach mehrwöchentlichem Stehen der Pilzrasen nicht mehr zunahm, wurde die unter demselben stehende Nährlösung durch frische sterilisirte ersetzt. Es gelang mir auf diese Weise im Laufe einiger Monaten eine für die Darstellung genügende Quantität des genannten Pilzes zu züchten. Ich wusch denselben, um die in der Nährlösung enthaltenen Kohlenhydrate und sonstige Stoffe zu entfernen, sehr oft mit destillirtem Wasser aus. Der mit etwas verdünntem Alkohol behandelte Pilz wurde nun so verarbeitet, wie bei Boletus edulis angegeben. Die Darstellung des Cellulosepräparats geschah nach dem Hoffmeister'schen Verfahren; die Digestion mit dem Chlorgemisch musste aber 3 Tage fortgesetzt werden, ehe die Masse gelb geworden war.

VI. Botrytis. Zuerst wurde auch wieder eine Reincultur dargestellt und dann züchtete ich mir eine grössere Quantität dieses Pilzes, wie bei Penicillium angegeben, und behandelte denselben im Uebrigen, wie unter V gesagt worden ist.

Zusammensetzung und Eigenschaften der Pilzcellulosepräparate.

Wenn man nach den oben beschriebenen Methoden Cellulose aus Phanerogamen darstellt, so erhält man Präparate,

[1]) Als Nährlösungen verwendete ich in den meisten Fällen Malzextract oder Abkochungen von getrockneten Pflaumen; in einigen Fällen kam auch die von E. Schulze (diese Zeitschrift, Bd. 10, S. 138) unter Zusatz von Rohrzucker in Anwendung.

welche entweder weiss oder doch nur sehr wenig gefärbt sind, sich in Kupferoxydammoniak leicht auflösen und durch Jod und Schwefelsäure oder Chlorzinkjod blau gefärbt werden, in ihrer Zusammensetzung der Formel $C_6 H_{10} H_5$ ungefähr entsprechen und nur äusserst geringe Mengen Stickstoff einschliessen.

Die von mir dargestellten Pilzcellulosepräparate hingegen besassen wesentlich andere Eigenschaften; sie lösten sich in Kupferoxydammoniak nur spurenweise auf.

Mit Jod und Schwefelsäure oder Chlorzinkjod zeigte nur ein Präparat aus Polyporus und eines aus Agaricus campestris partielle Blaufärbung, die anderen wurden nur braun oder nach langer Einwirkung der Reagentien röthlich gefärbt.

Sie lösten sich zum grossen Theil in kalter verdünnter 5—10procentiger Lauge. In 60—70procentiger Schwefelsäure lösen sie sich schneller als gewöhnliche Cellulose; verdünnt man diese Lösung mit Wasser und kocht einige Zeit, so erhält man eine die Fehling'sche Lösung reducirende Flüssigkeit. Beim Destilliren mit 10procentiger Salzsäure gaben alle Präparate kleine Mengen von Furfurol[1]).

Was nun zunächst ihre Elementarzusammensetzung betrifft, so fand ich zu meiner Ueberraschung, dass sämmtliche Präparate beträchtliche Mengen Stickstoff einschlossen. Es scheint, dass dies von denjenigen Forschern, welche sich früher mit der Pilzcellulose beschäftigt haben, fast stets übersehen worden ist. Allerdings gibt W. Hoffmeister an, dass er aus Boletus edulis durch Behandlung mit Kaliumchlorat und Salzsäure ein Cellulosepräparat erhalten hat, welches noch 2% Stickstoff einschloss, aber offenbar legt er diesem Befunde keine Bedeutung bei und will sogar ein stickstofffreies Präparat erhalten haben, als er den Rückstand, welcher bei Behandlung des stickstoffhaltigen Präparats mit 5procentiger Lauge übrig blieb, in Salzsäure löste und diese Lösung mit Wasser wieder ausfällte[2]). Mir aber ist auch auf diesem Wege nicht gelungen, ein stickstofffreies Präparat zu erhalten. Ein so dar-

[1]) Die Furfurolausbeute betrug 1—2%.

[2]) Loc. cit.

gestelltes Präparat gab bei der Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl folgendes Resultat:

0,3940 gr. Substanz gaben 0,0182 gr. N = 13 cbcm. $^1/_{10}$ normaler Ammoniakfl. Daraus berechnet sich ein Gehalt von 4,62 % N.

Die Elementaranalyse meiner Präparate führte ich folgendermassen aus. Die längere Zeit im Exsiccator gestandenen und dann — um sie vollständig vom Alkohol zu befreien — einige Stunden bei 60° getrockneten und schliesslich wieder lufttrocken gemachten Präparate[1]) verbrannte ich mit Kupferoxyd im beiderseitig offenen Rohr im Luft- beziehungsweise Sauerstoffstrom, wegen des Stickstoffgehalts wurde eine Silber- oder reducirte Kupferspirale vorgelegt. Da alle Präparate Asche enthielten, so hielt ich es Anfangs für nöthig, den zu verbrennenden Substanzen im Schiffchen ein wenig Bleichromat zuzusetzen. Da ich mich jedoch später überzeugte, dass die Asche fast nur aus Kieselsäure bestand und frei von Kohlensäure war, so habe ich diesen Zusatz bei der Analyse einiger Präparate unterlassen; ich fand ferner, dass die Asche in den aus Agaricus campestris und Cantharellus cibarius dargestellten Präparaten sich nicht in gleicher Vertheilung befand, sodass verschiedene Portionen eines aus dem gleichen Gläschen herausgenommenen Präparats verschiedene Aschenmengen hinterliessen; um einen diesem Umstand entspringenden Fehler zu vermeiden, habe ich bei einigen der später ausgeführten Analysen die im Schiffchen zurückgebliebene Asche von der angewandten Trockensubstanz abgezogen. Die Resultate wurden dann in bekannter Weise auf wasserfreie Substanz umgerechnet.

Die Stickstoffbestimmungen führte ich in den meisten Fällen nach der Kjeldahl'schen Methode aus. Behufs Controle machte ich eine Reihe Stickstoffbestimmungen nach der volumetrischen Methode.

---

[1]) Verwendet man ein lufttrockenes Präparat für die Analyse, so wird ein Fehler vermieden, welcher dadurch verursacht werden kann, dass bei 100° oder noch höheren Temperaturen getrocknete Substanzen schnell wieder Wasser anziehen; letzteres kann während des Abwägens und Einbringens in die Verbrennungsröhre erfolgen.

Cellulose aus Boletus edulis nach Fr. Schulze dargestellt:

I. 0,6836 gr. Substanz gaben 0,148 gr. H_2O und 0,0270 gr. Asche.
a) 0,4374 gr. Substanz = 0,3184 gr. aschenfreier Trockensubstanz gaben 0,4920 gr. CO_2 und 0,2910 gr. H_2O.
b) 0,2776 gr. Substanz = 0,20146 gr. aschenfreier Trockensubstanz gaben 0,3150 gr. CO_2 und 0,1784 gr. H_2O.
c) 1 gr. Trockensubstanz gaben 0,0390 gr. N = 27,9 $^1/_{10}$ Norm.-NH_3.
d) 1 gr. Trockensubstanz gaben 0,0385 gr. N = 27,5 $^1/_{10}$ Norm.-NH_3.
e) 0,40892 gr. Trockensubstanz gaben 12,6 cbcm. Gas bei 14° und 722 mm.

Aus diesen Zahlen berechnet sich folgender C-, H- und N-Gehalt:

	I.	II.	III.	Mittel.
C . . .	42,14 %	42,64 %	—	42,39 %
H . . .	6,66 »	6,28 »	—	6,47 »
N . . .	3,90 »	3,85 »	3,94 %	6,89 »

Cellulose aus Boletus edulis nach W. Hoffmeister dargestellt:

I. 0,3680 gr. Substanz gaben 0,120 gr. H_2O und 0,019 gr. Asche.
a) 0,4520 gr. Substanz = 0,4141 gr. aschenfreier Trockensubstanz gaben 0,6806 gr. CO_2 und 0,2470 gr. H_2O.
b) 0,3780 gr. Substanz = 0,348 gr. aschenfreier Trockensubstanz gaben 0,56 gr. CO_2 und 0,2096 gr. H_2O.
b) 1 gr. Trockensubstanz gab 0.0365 gr. N = 26,1 cbcm. $^1/_{10}$ Norm.-NH_3.
d) 1 gr. Trockensubstanz gab 0,03612 gr. N = 25,8 cbcm. $^1/_{10}$ Norm.-NH_3.

Aus diesen Zahlen berechnen sich folgende Resultate:

	I.	II.	Mittel.
C . . .	44,82 %	44,36 %	44,59 %
H . . .	6,23 »	6,32 »	6,27 »
N . . .	3,65 »	3,61 »	3,33 »

Präparat aus Polyporus off. nach W. Hoffmeister dargestellt:

a) 0,3500 gr. aschenfreier Trockensubstanz gaben 0,5602 gr. CO_2 und 0,2042 gr. H_2O.
b) 0,2052 gr. aschefreier Trockensubstanz gaben 0,3300 gr. CO_2 und 0,1192 gr. H_2O.

c) 0,983 gr. Trockensubstanz gab 0,070 gr. N = 5 cbcm. $^1/_{10}$ Norm.-NH_3.
d) 0,983 gr. Trockensubstanz gab 0,0672 gr. N = 4,8 cbcm. $^1/_{10}$ Norm.-NH_3.

Aus diesen Zahlen berechnen sich folgende Resultate:

	I.	II.	Mittel.
C . . .	43,65 %	43,86 %	43,75 %
H . . .	6,48 »	6,45 »	6,46 »
N . . .	0,71 »	0,69 »	0,70 »

Präparat aus Polyporus durch Behandlung mit Schulze'schem und Hoffmeister'schem Oxydationsgemisch dargestellt:

a) 1 gr. Trockensubstanz gab 0,02636 gr. N = 18,9 cbcm. $^1/_{10}$ Norm.-NH_3.
b) 1 gr. Trockensubstanz gab 0,02576 gr. N = 18,4 cbcm. $^1/_{10}$ Norm.-NH_3.
Daraus berechnet sich ein Gehalt von 2,60 % N.

Präparat aus Lactarius unbekannter Species nach W. Hoffmeister dargestellt:

I. 0,6248 gr. Substanz gaben 0,0142 gr. H_2O und 0,015 gr. Asche.
a) 0,3908 gr. Substanz = 0,3726 gr. aschenfreier Trockensubstanz gaben 0,5728 gr. CO_2 und 0,2308 gr. H_2O.
b) 0,4634 gr. Substanz = 0,4418 gr. aschenfreier Trockensubstanz gaben 0,679 gr. CO_2 und 0,2754 gr. H_2O.

Aus diesen Zahlen berechnen sich folgende Resultate:

	I.	II.	Mittel.
C . . .	41,92 %	41,91 %	41,91 %
H . . .	6,87 »	6,92 »	6,89 »

Cellulosepräparat aus Cantharellus cibarius nach W. Hoffmeister dargestellt:

a) 0,3340 gr. aschenfreier Trockensubstanz gaben 0,5500 gr. CO_2 und 0,2100 gr. H_2O.
b) 0,4130 gr. aschenfreier Trockensubstanz gaben 0,6816 gr. CO_2 und 0,2496 gr. H_2O.
c) 0.9322 gr. Trockensubstanz gaben 0,0266 gr. 19 cbcm. $^1/_{10}$ Norm.-NH_3.
d) 0,9322 gr. Trockensubstanz gaben 0,02632 gr. N = 18,8 cbcm. NH_3.
e) 0,4800 gr. Trockensubstanz gaben 13,8 cbcm. Gas bei 18° und 722 mm.

Aus den vorstehenden Zahlen berechnen sich folgende Resultate:

	I.	II.	III.	Mittel.
C . . .	44,90 %	44,84 %	—	44,87 %
H . . .	6,98 »	6,73 »	—	6,85 »
N . . .	2,82 »	2,85 »	3,15 %	2,97 »

Präparat aus Agaricus campestris nach W. Hoffmeister dargestellt:

a) 0,3478 gr. Trockensubstanz aschenfrei in Rechnung gesetzt gaben 0,5620 gr. CO_2 und 0,2060 gr. H_2O.

b) 0,3136 gr Trockensubstanz aschenfrei in Rechnung gesetzt gaben 0,5124 gr. CO_2 und 0.1894 gr. H_2O.

c) 0,2780 gr. Trockensubstanz gaben 9,6 cbcm. Gas bei 23,5° und 722 mm.

Aus den vorstehenden Zahlen berechnen sich folgende Resultate:

	I.	II.	Mittel.
C . . .	44,08 %	44,56 %	44,32 %
H . . .	6,58 »	6,71 »	6,64 »
N . . .	3,58 »	—	3,58 »

Präparat aus Botrytis nach W. Hoffmeister dargestellt:

I. 0,2940 gr. Substanz gaben 0,0084 gr. H_2O und 0,0048 gr. Asche.

a) 0,3520 gr. Substanz = 0,3363 gr. Trockensubstanz aschenfrei in Rechnung gesetzt gaben 0,5220 gr. CO_2 und 0,2078 gr. H_2O.

b) 0,3865 gr. Substanz = 0,36830 gr. Trockensubstanz aschenfrei in Rechnung gesetzt gaben 0,5650 gr. CO_2 und 0,2350 gr. H_2O.

c) 0,3052 gr. Substanz = 0,2882 gr. Trockensubstanz gaben 10,4 cbcm. Gas bei 20° und 720 mm.

Aus den vorstehenden Zahlen berechnen sich folgende Resultate:

	I.	II.	Mittel.
C . . .	42,33 %	41,84 %	42,08 %
H . . .	6,50 »	6,16 »	6,33 »
N . . .	3,90 »	—	3,90 »

Cellulosepräparat aus Morchella esculenta nach W. Hoffmeister dargestellt:

a) 0,5 gr. Substanz gaben 0,01232 gr. N = 8,8 cbcm. NH_3 ($^1/_{10}$ Norm.).

b) 0,5 gr. Substanz gaben 0,01232 gr. N = 8,8 cbcm. $^1/_{10}$ Norm.-NH_3. Daraus berechnet sich ein Mittel an Stickstoffgehalt von 2,46 %.

Cellulosepräparat aus Penicillium glaucum vermittelst des Hoffmeister'schen Oxydationsgemisches dargestellt:

a) 0,980 gr. Trockensubstanz gaben 0,03108 gr. N = 22,2 cbcm. $^1/_{10}$ Norm. NH_3.

b) 0,490 gr. Trockensubstanz gaben 0,01680 gr. N = 12 cbcm. $^1/_{10}$ Norm.-NH_3. Daraus berechnet sich im Mittel ein Gehalt von 3,30 %.

Cellulose aus ungetrocknetem Agaricus campestris vermittelst des Hoffmeister'schen Oxydationsgemisches dargestellt:

a) 0,4820 gr. Substanz gaben 0,0182 gr. N = 13 cbcm. $^1/_{10}$ Norm.-NH_3.

b) 0,4820 gr. Substanz gaben 0,0182 gr. N = 13 cbcm. $^1/_{10}$ Norm.-NH_3. Daraus berechnet sich ein Gehalt von 3,78 % Stickstoff.

Ueberblickt man diese Resultate, so sieht man, dass sämmtliche von mir dargestellten Pilzcellulosepräparate noch beträchtliche Mengen Stickstoff einschlossen, dass aber der Stickstoffgehalt ein schwankender war. Am niedrigsten war derselbe bei einem aus Polyporus offic. dargestellten Präparat, welches nur noch 0,7 % N einschloss, während die aus den anderen Objecten erhaltenen Präparate nahezu 4 % N enthielten. Auch der Gehalt der Präparate an Kohlenstoff und Wasserstoff war ein schwankender.

Ich musste mir nun zunächst die Frage vorlegen, ob der in den Pilzcellulosepräparaten von mir vorgefundene Stickstoff darin noch in Form von Eiweiss vorhanden war. Die Behandlung, welcher ich die auf feinste gepulverte Objecte behufs Darstellung der Cellulosepräparate unterworfen hatte, nämlich die Extraction mit verdünnter Natronlauge und die darauffolgende Behandlung mit Ammoniakflüssigkeit, genügen ja bekanntlich bei der Darstellung von Cellulosepräparaten aus Phanerogamen, um die Eiweissstoffe bis auf einen mini-

malen, gar nicht in Betracht kommenden Rest zu entfernen, und es ist nicht einzusehen, warum bei den Pilzen die Proteïnstoffe dieser Behandlung sollten widerstehen können.

Dass in der That in den von mir dargestellten Pilzcellulosepräparaten nur noch minimale Mengen von Proteïnstoffen vorhanden waren, geht aus folgenden Thatsachen hervor: 1. Dass ich in denselben nur Spuren von Phosphor und Schwefel nachweisen konnte[1]. 2. Weiter konnte ich auch keine Eiweissreaction mit Millon'schem Reagens erhalten. 3. Die vermittelst 70proc. Schwefelsäure hergestellten und dann mit Wasser verdünnten Lösungen meiner Präparate gaben weder in saurer noch in neutraler Flüssigkeit Niederschläge mit den bekannten Fällungsmitteln (Phosphorwolframsäure, Tannin) für Eiweissstoffe[2]. 4. Auch das Verhalten gegen kochende Laugen beweist, dass der Stickstoffgehalt nicht auf Eiweissstoffe zurückzuführen ist; durch Kochen mit 5proc. und 10proc. Lauge konnte ich nicht mehr als einen geringen Bruchtheil der stickstoffhaltigen Substanz herausbringen. Ueber die Details der diesbezüglichen Versuche theile ich Folgendes mit:

5 gr. Pilzcellulose aus Boletus edulis nach dem Hoffmeister'schen Verfahren dargestellt, wurden mit 200 cbcm. 10proc. Kalilauge 2 Stunden am Liebig'schen Kühler gekocht und die hierbei übergehende Flüssigkeit in 5 cbcm. $^1/_2$ Norm.-Schwefelsäure eingeleitet, nach Beendigung des Kochens wurden 20 cbcm. $^1/_{10}$ Norm.-Ammoniakflüssigkeit verbraucht. Es waren also nur 0,007 gr. oder 0,14% Stickstoff in Form von Ammoniak ausgetrieben worden. Der bei dieser Behandlung verbliebene Rückstand wurde nun zuerst durch

---

[1]) In meiner ersten Publikation, Berichte der d. botan. Gesellschaft, Bd. XI, S. 441, habe ich angegeben, dass die Präparate keinen Schwefel und Phosphor enthalten. Jetzt, da ich im Besitz grösserer Quantitäten gelangt war, habe ich für den Nachweis von Schwefel und Phosphor jeweilen 1 gr. mit Natroncarbonat und Soda geschmolzen und Spuren von Schwefelsäure und Phosphorsäure nachweisen können.

[2]) Als ich ein Gemenge von gewöhnlieher Cellulose und Pflanzeneiweiss so behandelte, bekam ich mit Phosphorwolframsäure starke Niederschläge.

Decantation, dann auf dem Filter vollständig ausgewaschen und in demselben der Stickstoff nach Kjeldahl bestimmt; er enthielt jetzt 5,83 % N, wie aus nachstehenden Zahlen zu ersehen ist:

0,5 gr. Substanz gaben 0,02926 gr. N = 20,9 cbcm. $^{1}/_{10}$ Norm.-NH_3.
0,5 gr. Substanz gaben 0,02912 gr. N = 20,8 cbcm. $^{1}/_{10}$ Norm.-NH_3.

II. Ein Pilzcelluloseapparat aus Boletus edulis nach dem Fr. Schulze'schem Macerationsverfahren dargestellt gab bei 1 stündigem Kochen mit 5 proc. Kalilauge auch nur 0,12 % N. Der verbliebene Rückstand enthielt 5,60 % N.

0,5 gr. Substanz gaben 0,028 gr. N = 20 cbcm. $^{1}/_{10}$ Norm.-NH_3.

Einen Beweis für die ausserordentliche Widerstandsfähigkeit der stickstoffhaltigen Substanz gibt auch die Thatsache, dass auch nach dem Hoppe-Seyler'schen Verfahren klargestellte Pilzcellulosepräparate stickstoffhaltig waren. Ein Präparat aus Boletus edulis nach diesem Verfahren dargegestellt enthielt im Mittel 5,69 % N.

a) 0,5 gr. Substanz gaben 0,02884 gr. N = 20,6 cbcm. $^{1}/_{10}$ Norm.-NH_3,
b) 0,8448 gr. Substanz gaben 0,0476 gr. N = 34 cbcm. $^{1}/_{10}$ Norm.-NH_3.

Ein Präparat aus Agaricus campestris enthielt 4,55 % N.

1 gr. Substanz gab 0,0455 gr. N = 32,5 cbcm. $^{1}/_{10}$ Norm.-NH_3.

Ein Präparat aus Cantharellus cibarius enthielt 4,58 % N.

0,5 gr. Substanz gaben 0,0249 gr. N = 17,8 cbcm. NH_3.

Alle diese Versuchsergebnisse machen es zweifellos, dass in den von mir dargestellten Pilzcellulosepräparaten Proteïnstoffe nur noch in einer minimalen, gar nicht in Betracht kommenden Quantität enthalten sein konnten, ebensowenig aber kann man annehmen, dass die Präparate Nucleïn und Plastin einschlossen, denn diese stickstoffhaltigen Verbindungen sind bekanntlich löslich in Alkalien.

Ich habe nun noch versucht, einigen Aufschluss über die Natur der stickstoffhaltigen Substanz zu gewinnen. Zu diesem Zwecke stellte ich folgenden Versuch an: 5 gr. Pilzcellulose aus Boletus edulis nach dem Hoffmeister'schen Verfahren dargestellt, wurden mit 20 gr. ca. 65 proc. Schwefel-

säure zusammengebracht, die Mischung 24 Stunden stehen gelassen, die hierbei entstandene dickflüssige Lösung mit Wasser verdünnt, von den geringen Mengen des Ungelösten abfiltrirt und das Filtrat auf 200 cbcm. gebracht. 40 gr. dieser Lösung = 1 gr. Substanz wurden nun mit concentrirter Lauge längere Zeit erhitzt und das Destillat in titrirte Schwefelsäure aufgefangen. Hierbei waren 1,6 % N in Form von Ammoniak abgespalten worden.

a) 40 cbcm. Lösung = 1 gr. Substanz gaben 0,01388 gr. N = 9,9 cbcm. $^1/_{10}$ Norm.-NH_3.
b) Die gleiche Menge gab 0,01274 gr. N = 9,2 cbcm. $^1/_{10}$ Norm.-NH_3.

Nach 2stündigem Kochen gaben 40 cbcm. der Lösung 0,01625 gr. N = 11,6 cbcm. $^1/_{10}$ Norm.-NH_3. Es waren also auch nach 2stündigem Kochen mit sehr concentrirter Lauge nur 1,62 % N in Form von Ammoniak ausgetrieben worden. Das Ammoniak bildet sich aber nicht beim Lösen der Substanz in Schwefelsäure, sondern wird erst unter dem Einfluss der Lauge gebildet. Dies beweist noch folgender Versuch: 40 cbcm. der erwähnten Lösung wurden mit Natriumcarbonat nahezu neutralisirt und dann unter Zusatz von Magnesiumoxyd und Wasser destillirt, hierbei war in die vorgelegte Schwefelsäure kein Ammoniak übergegangen. Diese Versuche beweisen also, dass die stickstoffhaltige Substanz ausserordentlich widerstandsfähig ist und dass dieselbe nur ganz allmälig durch kochende Laugen in Ammoniak übergeführt wird.

Als Abschluss über die Eigenschaften der Pilzcellulosepräparate sei noch erwähnt, dass dieselben beim Kochen mit verdünnten Säuren stärker angegriffen werden, als Cellulose aus Phanerogamen. Die Ausführung der diesbezüglichen Versuche geschah in folgender Weise: Eine abgewogene Menge lufttrockner Substanz, deren Feuchtigkeitsgehalt durch Austrocknen bei 105° bestimmt worden war, wurde in einem 500 cbcm. fassenden Erlenmeyer-Kolben eine Stunde mit 200 cbcm. $1^1/_4$ proc. Schwefelsäure am Rückflusskühler gekocht, das Ungelöste nach Erkalten der Flüssigkeit auf ein bei 105° getrocknetes und gewogenes Filter gebracht und der Rückstand auf dem Filter bis zum völligen Verschwinden der

Schwefelsäure ausgewaschen. Das Filter wurde nun sammt Inhalt bei 195° bis zum constanten Gewicht getrocknet und dann gewogen.

Ausser der bei dieser Behandlung erfolgenden Gewichtsabnahme meiner Präparate suchte ich noch die Zuckermenge, welche aus dem bei Einwirkung der verdünnten Schwefelsäure in Lösung gegangenen Antheil der Cellulose sich bildete, zu bestimmen. Zu diesem Zwecke wurde das Filtrat nebst den ersten Antheilen des Waschwassers auf 150 cbcm. eingeengt und diese Flüssigkeit behufs Vollendung der Verzuckerung noch weitere 2 Stunden gekocht, dann mit Natronhydrat neutralisirt und die Zuckermenge nach der Allihn'schen Methode bestimmt. Es zeigte sich, wie im Hinblick auf den Stickstoffgehalt zu erwarten war, dass die in dieser Weise gefundene Dextrosemenge in keinem Falle diejenige Quantität so gross war, wie die Gewichtsabnahme der Substanz beim Kochen mit Säuren.

Pilzcellulose nach W. Hoffmeister aus:	Verluste durch $1\frac{1}{4}$proc. Schwefelsäure.	Dextrose in der Lösung.
Boletus edulis	10,83 %	5,86 %
Cantharellus cibarius	19,10 »	10,33 »
Polyporus officinalis	22,38 »	10,58 »
Agaricus campestris	16,05 »	10,31 »

Analytische Belege. Cellulose aus Boletus. 0,0386 gr. Substanz gaben 0,1480 gr. H_2O. a) 1 gr. Substanz = 0,7661 gr. Trockensubstanz gaben 0,6820 gr. Rückstand. b) Die gleiche Substanzmenge gab 0,6860 gr. Rückstand. Bei der Bestimmung der Glucosen erhielt ich folgende Zahlen: a) 0,0940 gr. Cu = 0,0479 gr. Dextrose. b) 0,0900 gr. Cu = 0,0459 gr. Dextrose.

Cellulose aus Cantharellus. 0,728 gr. Substanz gaben 0,0494 gr. H_2O. a) 1 gr. Substanz = 0,9322 gr. Trockensubstanz gaben 0,7580 gr. Rückstand. b) Die gleiche Substanzmenge gab 0,7500 gr. Rückstand. Die Bestimmung der Glucosen gab folgende Resultate: a) 0,1920 gr. Cu = 0,0984 gr. Dextrose. b) 0,1840 gr. Cu = 0,0942 gr. Dextrose.

Cellulose aus Agaricus campestris. 0,9200 gr. Trockensubstanz gaben 0,7640 gr. Rückstand. b) Die gleiche Substanzmenge gab 0,7720 gr. Rückstand. Die Bestimmung der Glucosen gab folgende Zahlen:

Wie ich in einer früheren Arbeit gezeigt[1]), erleiden die aus verschiedenen Phanerogamen dargestellten Cellulosepräparate bei gleicher Behandlung eine Gewichtsabnahme von 1,56—2,96 %. Meine Pilzcellulosepräparate wurden also, wie aus obenstehenden Zahlen zu erschliessen, von verdünnter kochender Säure stärker angegriffen.

Ich habe nun auch das Verhalten zweier Präparate gegen 5proc. Schwefelsäure geprüft. Bei 1stündigem Kochen mit dieser Säure war die Gewichtsabnahme etwas grösser als bei gleicher Kochdauer mit $1^1/_4$proc. Schwefelsäure.

Pilzcellulose nach W. Hoffmeister aus:	Verlust durch 5proc. Schwefelsäure.	Dextrose in der Lösung.
Boletus edulis	17.86 %	—
Cantharellus cibarius	22,80 »	12,72 %

Untersuchung der bei der Hydrolyse der Pilzcellulose entstehenden Producte.

Wie schon im Anfang des vorigen Abschnittes erwähnt ist, geben sämmtliche Cellulosepräparate eine die Fehling'sche Lösung reducirende Flüssigkeit, wenn man dieselben in Schwefelsäure löst und die mit Wasser verdünnte Lösung eine Zeit lang kocht. Bei Inangriffnahme dieser Arbeit hatte ich mir auch die Frage vorgelegt, welche Producte die Pilzcellulose bei der Hydrolyse liefern.

Im Hinblick auf die von der gewöhnlichen Cellulose abweichenden Eigenschaften und auf den beträchtlichen Stickstoffgehalt meiner Präparate, liess sich jedoch von vornherein

---

a) 0,1810 gr. Cu = 0,0926 gr. Dextrose. b) 0,1900 gr. Cu = 0,0973 gr. Dextrose.

Cellulose aus Polyporus off. 1 gr. Substanz = 0,9938 gr. Trockensubstanz gaben 0,7716 gr. Rückstand. Bei der Dextrosebestimmung erhielt ich folgende Zahlen: 0,2050 gr. Cu = 0,1053 gr. Dextrose.

Cellulose aus Boletus. 1 gr. Substanz = 0,7671 gr. Trockensubstanz gaben 0,6302 gr. Rückstand.

Cellulose aus Cantharellus. 1 gr. Substanz = 0,9322 gr. Trockensubstanz gaben 0,7198 gr. Rückstand. Die Bestimmung der Glucosen gab folgende Zahlen: 0,2300 gr. Cu = 0,1185 gr. Dextrose.

[1]) Diese Zeitschrift, Bd. 16, S. 391.

erwarten, dass die Hydrolyse derselben nicht so glatt verlaufen würde, wie bei gewöhnlicher Cellulose. Dieser Erwartung entsprach auch das Ergebniss; bei der Hydrolyse mit Schwefelsäure lieferten mir die für diesen Zweck verwendeten Präparate Flüssigkeiten, welche neben Glucosen Essigsäure und eine stickstoffhaltige Substanz einschlossen.

Ich führte die Hydrolyse aller Präparate in gleicher Weise aus. In Folgendem beschreibe ich zunächst das Ergebniss, welches ich bei den aus Polyporus offic. dargestellten Präparaten erhielt.

Das getrocknete Präparat wurde mit der 4 fachen Menge 70 proc. Schwefelsäure übergossen, wobei es sich im Verlauf mehrerer Stunden verflüssigte. Das Gemisch wurde nach 24 stündigem Stehen mit so viel Wasser verdünnt, dass die Lösung ca. 3 % Schwefelsäure enthielt und darauf 4 Stunden am Rückflusskühler gekocht, nach Beendigung des Kochens wurde die Flüssigkeit mit Barythydrat nahezu neutralisirt und die vom ausgeschiedenen Barymusulfat getrennte, schwach sauer reagirende Flüssigkeit zum Syrup eingedampft, letzterer mit 95 proc. Alkohol in der Wärme ausgezogen, wobei ein brauner Rückstand hinterblieb, welcher 5,04 % N enthielt[1]). Der gewonnene alkoholische Extract lieferte beim Verdunsten über Schwefelsäure Krystalle, welche noch einmal aus Weingeist umkrystallisirt folgende Eigenschaften besassen: Die wässrige Lösung war rechtsdrehend; eine solche Lösung, welche in 20 cbcm. 0,722 gr. Trockensubstanz enthielt, drehte im 20 mm-Rohr bei Zimmertemperatur 23,1° S.-V.[2]) nach rechts. Aus diesen Zahlen berechnet sich $[\alpha]_D = 48{,}38^\circ$. Bei der Gährung mit Hefe gaben 0,1 gr. dieser Krystalle 15,2 cbcm. Gas, während die gleiche Menge von reinem Traubenzucker unter gleichen Versuchsbedingungen 16 cbcm. gab[3]). Das in bekannter Weise durch Erhitzen mit essigsaurem Phenyl-

[1]) a) 1 gr. Rückstand gab 0,0154 gr. N = 11 cbcm. $^1/_{10}$ Norm.-NH_3.
b) 1 gr. Rückstand gab 0,0168 gr. N = 12 cbcm. $^1/_{10}$ Norm.-NH_3.

[2]) Die Drehung war anfänglich höher, es war also Birotation vorhanden.

[3]) Der Versuch wurde nach der Vorschrift von Stone und Tollens ausgeführt. Ann. d. Chem. u. Pharm. 249, S. 259.

hydrazin dargestellte Präparat schmolz nach dem Umkrystallisiren aus 70 proc. Weingeist bei 204°. Ich oxydirte nun ferner den von den Krystallen abgepressten Syrup mit Salpetersäure vom spec. Gewicht 1,15 und konnte hierbei nach dem bekannten Verfahren von Gans und Tollens zuckersaures Silber isoliren, welches durch die Silberbestimmung im Letzteren identificirt. Ich erhielt folgende Zahlen: 0,1190 gr. zuckersaures Silber gaben 0,0610 gr. Ag = 51,26 % Ag. Die Theorie verlangt 50,94 % Ag im zuckersauren Silber.

Auch bei der Hydrolyse des zweiten nach dem Hoffmeister'schen Verfahren dargestellten Präparats erhielt ich in der gleichen Weise einen krystallisirten Zucker, dessen Drehungsvermögen dem Traubenzucker sehr nahe steht, wie aus folgenden Daten zu ersehen ist: 0,4220 gr. Trockensubstanz drehten bei Zimmertemperatur im 200 mm-Rohr 12,4° S-V nach rechts, daraus berechnet sich ein specifisches Drehungsvermögen von $[\alpha]_D + 50,90°$.

Aus diesen Ergebnissen ist zu schliessen, dass die bei Hydrolyse dieser Präparate gebildete Glucose Traubenzucker war. Allerdings stimmt das im ersten Fall gefundene specifische Drehungsvermögen nicht ganz auf Traubenzucker, doch ist die Abweichung nicht so bedeutend, dass sie gegenüber den anderen Ergebnissen ins Gewicht fielen, sie kann auf geringe Beimengungen zurückgeführt werden.

Bei der Hydrolyse zwei anderer aus Boletus edulis und Agaricus campestris nach dem Hoffmeister'schen Verfahren dargestellten Pilzcellulosepräparate konnte ich nach der eben beschriebenen Methode keinen krystallisirten Zucker erhalten, sondern nur braun gefärbte Syrupe; auch als ich die zuerst gewonnene weingeistige Lösungen wieder eindunstete und wieder mit 95 proc. Alkohol auszog, erhielt ich keine zur Krystallisation zu bringende Producte. Auch diese Inversionsproducte hinterliessen bei der Extraction mit Alkohol braune Rückstände, welche sickstoffhaltig waren. Der Rückstand aus Boletus edulis enthielt 5,04 % N[1]); ein solches aus Agaricus

[1]) a) 1,5 gr. Rückstand gaben 0,0784 gr. N = 56 cbcm. $^1/_{10}$ Norm.-NH_2.
b) 1,5 gr. Rückstand gaben 0,0728 gr. N = 52 cbcm. $^1/_{10}$ Norm.-NH_3.

campestris 3,50% N[1]). Dass aber diese Syrupe Dextrose einschlossen, geht aus ihrem Verhalten bei der Oxydation mit Salpetersäure und aus dem Schmelzpunkt des in bekannter Weise dargestellten und aus Weingeist umkrystallisirten Osazons hervor; ferner gährten die mit Hefe zusammengebrachten Lösungen ebenso schnell wie Traubenzucker[2]).

Das aus dem bei Hydrolyse des ersten Präparats, vergleiche oben, gewonnene Product gab ein Osazon, welches bei 201,5° schmolz. Bei der Oxydation entstand zuckersaures Silber, wie aus nachstehenden Zahlen ersichtlich: 0,0490 gr. Silbersalz gaben 0,0250 gr. Ag oder 51,02%. Die Theorie verlangt 50,94%.

Das aus dem zweiten Präparat gewonnene Osazon schmolz bei 198°.

Es schien nun auch wünschenswerth, die Quantität der bei Hydrolyse der Cellulosepräparate gebildete Glucose zu bestimmen. Es war natürlich von vornherein zu erwarten, dass dieselbe eine beträchtlich geringere sein würde, als diejenige Menge, welche bei der Inversion gewöhnlicher, aus Phanerogamen dargestellter Cellulosepräparate gebildet würde; diese Vermuthung wurde durch die nachstehenden Versuchsergebnisse bestätigt. Ueber die diesbezüglichen Versuche ist Folgendes anzugeben: Abgewogene Substanzmengen (gewöhnlich 1 gr. Trockensubstanz) wurden mit ca. 5 gr. 70 proc. Schwefelsäure angerührt, das Gemenge 12 Stunden stehen gelassen, die dünnflüssig gewordene Masse mit Wasser verdünnt, von dem geringen Antheil des Ungelösten abfiltrirt, die mit 200 cbcm. Wasser verdünnte Lösung wurde sodann 3—4 Stunden am Rückflusskühler gekocht und in einem aliquoten Theil derselben die Glucosemenge nach Allihn ausgeführt. Die Resultate habe ich so berechnet, als ob nur Dextrose vorgelegen hatte.

I. Präparat aus Boletus edulis nach dem Macerationsverfahren von Fr. Schulze dargestellt. Angewendet 1 gr.

---

1) 1 gr. Rückstand gab 0,0350 gr. N = 25 cbcm. $^1/_{10}$ Norm.-NH_3.

2) Bei den anderen Producten habe ich diesen Versuch nicht ausgeführt.

= 0,847 gr. aschenfreie Trockensubstanz. 200 cbcm. Flüssigkeit, je 20 cbcm. gaben:

a) 0,274 gr. Cu = 0,1422 gr. Dextrose.
b) 0,258 gr. Cu = 0,1335 gr. Dextrose.

Aus diesen Daten berechnet sich, dass das gesammte Präparat bei der Hydrolyse 65,19 % Glucose gab.

II. Präparat aus Polyporus officinalis nach dem Hoffmeister'schen Verfahren dargestellt. Angewendet 1 gr. = 0,983 aschenfreie Trockensubstanz. 300 cbcm. Flüssigkeit, 50 cbcm. davon gaben:

a) 0,298 gr. Cu = 0,1554 gr. Dextrose.
b) 0,296 gr. Cu = 0,1543 gr. Dextrose.

Dieses Präparat gab demnach 94,72 % Glucose.

III. Präparat aus Agaricus campestris. Angewendet 0,5 gr. = 0,431 gr. aschenfreie Trockensubstanz. 200 cbcm. Flüssigkeit, je 50 cbcm. davon gaben:

a) 0,1242 gr. Cu = 0,0632 gr. Dextrose.
b) 0,1264 gr. Cu = 0,0644 gr. Dextrose.

Dieses Präparat gab demnach 59,13 % Glucose.

IV. Präparat aus Morchella esculenta nach dem Hoffmeister'schen Verfahren dargestellt. Angewendet 1 gr. = 0,930 gr. aschenfreie Trockensubstanz. 250 cbcm. Flüssigkeit, 55 cbcm. davon gaben:

a) 0,2200 gr. Cu = 0,1132 gr. Dextrose.
b) 0,2214 gr. Cu = 0,1139 gr. Dextrose.

Daraus berechnet sich dieses Präparat bei der Hydrolyse 60,10 % Glucose.

V. Präparat aus Cantharellus cibarius, zweimal mit Kaliumchlorat und 10 procentiger Salzsäure behandelt. Angewendet 1 gr. = 0,9322 gr. aschenfreie Trockensubstanz. 150 cbcm. Flüssigkeit, 50 cbcm. davon gaben:

a) 0,1950 gr. Cu = 0,100 gr. Dextrose.
a) 0,1980 gr. Cu = 0,1015 gr. Dextrose.

Daraus berechnet sich, dass dieses Präparat bei der Hydrolyse 64,86 % Glucose gab.

IV. Präparat aus Botrytis nach dem Hoffmeister-schen Verfahren dargestellt. Angewendet 0,5 gr. Substanz = 0,4150 gr. aschenfreie Trockensubstanz. 200 cbcm. Flüssigkeit, 50 cbcm. davon gaben:

a) 0,1230 gr. Cu = 0,0526 gr. Dextrose.
b) 0,1230 gr. Cu = 0,0626 gr. Dextrose.

Dieses Präparat gab demnach 60,82 % Glucose.

In einer früheren Arbeit[1]) habe ich gezeigt, dass man bei der Inversion eines aus Lupinenschalen dargestellten Cellulosepräparats 93,86 % der theoretisch möglichen Menge Dextrose erhalten kann. Vergleicht man die eben mitgetheilten Resultate mit dieser Zahl, so sieht man, dass die aus sämmtlichen Pilzcellulosepräparaten bedeutend von jener Quantität abweichen; es ist ferner noch darauf aufmerksam zu machen, dass jenes Präparat aus Polyporus officinalis, welches nur 0,7 % Stickstoff einschloss, die grösste Ausbeute an Glucose lieferte.

Als ich die bei Hydrolyse der genannten Präparate von der Schwefelsäure befreiten zuckerhaltigen Flüssigkeiten zur Syrupconsistenz eindampfte, bemerkte ich einen Geruch nach Essigsäure, die vermittelst kochenden Weingeistes gewonnenen Extracte rochen stark nach Essigäther, es lag also der Gedanke nahe, dass aus den Präparaten bei der Hydrolyse Essigsäure gebildet wird, dass dies in der That der Fall war, geht aus folgender Versuchsreihe hervor. Ich löste wieder eine abgewogene Menge Substanz in 70proc. Schwefelsäure, filtrirte die mit Wasser verdünnte Lösung vom geringen Rückstand ab und destillirte die Flüssigkeit bei kleiner Flamme am Liebig'schen Kühler bis auf ein kleines Volumen ab. Das Destillat wurde in der Wärme mit Baryumcarbonat neutralisirt, die Lösung eingedampft und zur Krystallisation hingestellt. Ich erhielt auf diese Weise ein Salz, welches das Ausehen des Baryumacetats besass und auch im Baryumgehalt mit demselben übereinstimmte. Mit Alkohol und concentrirter Schwefelsäure erwärmt gab dasselbe Essigäther. Im Folgenden

[1]) Landwirthschaftliche Versuchsstation, Bd. 41, S. 375.

gebe ich nun die Zusammenstellung der bei Hydrolyse der Präparate entstandenen Quantitäten an Essigsäure.

I. Angewendet ein Präparat aus Boletus edulis; 2 gr. = 1,694 gr. aschenfreie Trockensubstanz gaben 0,4592 gr. Baryumacetat; daraus berechnet sich, dass dieses Präparat bei der Hydrolyse 12,52 % Essigsäure lieferte. Die Baryumbestimmung in diesem Salze gab folgendes Resultat: 0,4592 gr. Substanz gaben 0,4182 gr. Baryumsulfat = 53,55 %. Die Theorie verlangt 53,80 % Baryum im Baryumacetat.

II. 1 gr. eines Präparats aus Polyporus off. gab 0,0210 gr. Baryumsalz; dasselbe lieferte also bei der Hydrolyse 1,06 % Essigsäure.

III. Präparat aus Agaricus campestris. 1 gr. Substanz gab 0,1690 gr. Baryumacetat; daraus berechnet sich, dass dieses Präparat bei der Hydrolyse 9,09 % Essigsäure lieferte, Die Baryumbestimmung im vorliegenden Salz gab folgende Zahlen: 0,1460 gr. Baryumsulfat = 53,54 % Ba.

IV. 0,5593 gr. eines Präparats aus Cantharellus lieferten 0,0982 gr. Baryumsalz. Dieses Präparat gab demnach 8,09 % Essigsäure.

V. 0,598 gr. eines Präparats aus Morchella esculenta gaben 0,111 gr. essigsaures Baryum. Daraus berechnet sich, dass dieses Präparat 8,58 % Essigsäure lieferte.

VI. 0,4012 gr. eines Präparats aus Botrytis lieferten 0,0580 gr. Baryumsalz. Dieses Präparat lieferte demnach 8,89 % Essigsäure.

Auch aus diesen Resultaten geht hervor, dass sich das Präparat aus Polyporus wesentlich anders verhielt — dasselbe lieferte nur wenig Essigsäure.

Schlussbetrachtungen über die Pilzcellulose.

Aus den im Vorigen gemachten Mittheilungen ist zu ersehen, dass sämmtliche von mir nach den verschiedenen Methoden dargestellten Pilzcellulosepräparate beträchtliche Mengen Stickstoff einschlossen und dass dieser Stickstoff nicht in Form von Proteïnstoffen (Eiweisssubstanzen, Nucleïn etc.) vorhanden waren, dass dieselben ferner bei der Hydrolyse neben einer stickstoffhaltigen Substanz Essigsäure und Traubenzucker, vielleicht daneben auch noch andere Glucosen, lieferten.

Es ist nun zunächst die Frage zu stellen, ob trotz des eigentlichen Verhaltens meiner Pilzcellulosepräparate der Hauptbestandtheil derselben eigentliche Cellulose war, welche nur durch die Anwesenheit einer stickstoffhaltigen Substanz un-

bekannter Art verhindert wurde, die gewöhnlichen Celluloseactionen zu geben[1]).

Diese Frage glaube ich verneinen zu müssen und zwar aus folgenden Gründen:

1. Aus einem solchen Gemenge hätte doch wohl Kupferoxydammoniak die eigentliche Cellulose ausziehen müssen. Allerdings ist bekannt, dass in manchen Fällen die Cellulose aus den Membranen durch Kupferoxydammoniak nicht direct aufgelöst werden kann; man weiss aber auch, dass alle nach den im Vorigen beschriebenen Methoden aus Phanerogamen dargestellten Cellulosepräparate in Kupferoxydammoniak löslich sind und es wäre demnach zu erwarten gewesen, dass den nach den gleichen Methoden aus Pilzen dargestellten Präparaten, wenn dieselben aus einem Gemenge von Cellulose und einem stickstoffhaltigen Körper bestanden hätten, durch Kupferoxydammoniak die Cellulose hätte entzogen werden können.

2. In kalter 70 proc. Schwefelsäure lösen sich jene Präparate ebenso leicht als gewöhnliche Cellulose[2]) und man kann nicht wahrnehmen, dass hierbei sich ein stickstoffhaltiger Körper abscheidet, auch ist es mir nicht gelungen, aus der mit Wasser verdünnten Lösung durch Fällungsmittel einen stickstoffhaltigen Körper zur Ausscheidung zu bringen. Auch in einem Gemisch von concentrirter Salzsäure und Chlorzink lösen sich die Cellulosepräparate allmälig auf, ohne dass eine stickstoffhaltige Substanz abgeschieden wird. Allerdings bleibt in beiden Fällen ein ganz geringer Rückstand, das gleiche beachtet man auch bei Cellulosepräparaten aus Phanerogamen[3]).

3. Wenn man die Pilzcellulosepräparate mit kalter 5 proc. Natronlauge behandelt (wobei ein Theil in Lösung geht) und den dabei ungelösten Antheil mit concentrirter Salzsäure übergiesst, so löst sich letzterer auf. Die klare durch Glaswolle filtrirte Lösung gibt auf Zusatz von Wasser einen

---

[1]) Vergleiche die von Richter ausgesprochene Anschauung.

[2]) Die Präparate lösen sich viel schneller als gewöhnliche Cellulose auf.

[3]) Vergl. F. Flechsig, diese Zeitschrift, Bd. 7, p. 523.

Niederschlag; derselbe enthält noch ungefähr ebensoviel Stickstoff, wie das ursprüngliche Präparat und gibt wie dieses bei der Hydrolyse einen die Fehling'sche Lösung reducirenden Zucker; aus diesem Niederschlag kann sogar bei anhaltendem Digeriren durch 2½ proc. Natronlauge die stickstoffhaltige Substanz auch nicht extrahirt werden[1]).

4. Wenn man gewöhnliche Cellulose mit circa 70proc. Schwefelsäure behandelt, die Säure sodann durch Auswaschen mit Wasser entfernt, so bildet sich bekanntlich ein gallertartiger Körper, das Amyloid, welches durch Jod blau gefärbt wird; der gleiche Versuch gab bei den von mir dargestellten Pilzcellulosepräparaten[1]) allerdings auch eine Gallerte, aber dieselbe wurde durch Jod nicht blau gefärbt.

Ich habe also überhaupt kein Mittel finden können, denjenigen Antheil der Pilzcellulosepräparate, welcher bei der Hydrolyse Zucker gibt, von der stickstoffhaltigen Substanz zu trennen; erst die bei Hydrolyse entstandenen Spaltungsproducte lassen sich trennen.

Gestützt auf diese Versuchsergebnisse glaube ich die oben gestellte Frage verneinen zu müssen. Ich halte es für wahrscheinlich, dass in meinen Präparaten der in Zucker überführbare Atomcomplex sich in chemischer Verbindung mit einer stickstoffhaltigen Gruppe vorfand. Es ist denkbar, dass ebenso wie in verholzten Pflanzengeweben die Cellulose sich in chemischer Verbindung mit gewöhnlich stickstofffreien «inkrustirenden Stoffen» vorfindet und in Folge dessen in ihren Eigenschaften verändert ist, hier ein stickstoffhaltiger Körper als inkrustirende Substanz mit der Cellulose auftritt, wobei freilich ein Unterschied darin liegt, dass diejenigen Mittel, durch welche die inkrustirende Substanz bei den Phanerogamen entfernt werden kann, hier nicht wirksam waren. Allerdings ist noch nicht bewiesen, dass die dieser

---

[1]) a) Ein Präparat aus Boletus edulis enthielt nach dieser Behandlung 5,56 % N, 0,2770 gr. Trockensubstanz gaben 0,01540 gr. N = 11 cbcm. $^1/_{10}$ Norm.-NH_3. b) Ein Präparat aus Agaricus campestris enthielt nach dieser Behandlung 4,89 % N, 0,355 gr. Trockensubstanz gaben 0,01736 gr. N = 12,4 cbcm. $^1/_{10}$ Norm.-NH_3.

Anschauung entsprechende Annahme, dass der in der Pilzcellulose enthaltene stickstofffreie Atomcomplex, welcher bei der Hydrolyse Glucose liefert, mit der gewöhnlichen Cellulose identisch ist, aber Letzteres kann doch nicht für unmöglich und nicht einmal für unwahrscheinlich erklärt werden. Denn bekanntlich geben die Zellmembranen mancher Pilze oder gewisser Theile von solchen[1]) Blaufärbung mit Jod und Schwefelsäure und scheinen demnach wirklich einen mit der gewöhnlichen Cellulose identischen Körper zu enthalten. Es ist denkbar, dass die aus den obengenannten Objecten dargestellten Pilzcellulosepräparate einen mit der gewöhnlichen Cellulose übereinstimmenden stickstofffreien Atomcomplex einschlossen, welcher aber durch seine Verbindung mit diesem stickstoffhaltigen Stoff andere Eigenschaften erhalten hat.

Da nun, wie oben erwähnt worden ist, allem Anschein nach gewöhnliche Cellulose vorkommen kann, so ist die oben von mir gemachte Schlussfolgerung, nach welcher die von mir dargestellten Präparate kein Gemenge von gewöhnlicher Cellulose und einem stickstoffhaltigen Körper gewesen sein können, nicht so zu verstehen, als ob nicht auch diese Präparate neben eigentlicher Pilzcellulose geringe Mengen von gewöhnlicher Cellulose eingeschlossen haben können.

Nun ist freilich noch zu bemerken, dass die bei der Elementaranalyse der Pilzcellulosepräparate erhaltenen Zahlen nicht dafür sprechen, dass die Präparate homogene Substanzen waren, auch lassen sich die Differenzen, welche sich zwischen verschiedenen Präparaten in der Zusammensetzung zeigten, wahrscheinlich nicht durch die Annahme erklären, dass Gemenge einer einheitlichen Substanz (Pilzcellulose) mit geringen Quantitäten eigentlicher Cellulose vorlag. Es ist im Gegentheil wahrscheinlich, dass die Grundsubstanz verschiedener Präparate aus verschiedenen Stoffen sich zusammensetzte. Besonders auffallend ist der Unterschied im Stickstoffgehalt zwischen dem aus Polyporus und den aus anderen Objecten dargestellten Pilzcellulosepräparaten. Im Hinblick auf diesen grossen Unterschied scheint es fast, dass

[1]) De Bary, loc. cit., Seite 9.

die Grundsubstanz der aus Polyporus dargestellten Pilzcellulose von derjenigen aus anderen Objecten dargestellten verschieden war.

Wie stimmen nun mit den im Vorigen ausgesprochenen Anschauungen die Ansichten überein, die man auf Grund des mikrochemischen Verhaltens ausgesprochen hat. Darauf ist zu antworten, dass in einigen Punkten Uebereinstimmung stattfindet, in anderen dagegen nicht. Was zunächst die Arbeit Richter's betrifft, so konnte derselbe zwar bei einigen Objecten die Cellulosereaction mit Chlorzinkjodlösung erhalten, bei anderen hingegen gelang dies nicht. Er sucht dies durch die Annahme zu erklären, dass Eiweissstoffe in die Membran eingelagert seien und dadurch die Reactionen verhindern. Diese Annahme aber kann nicht für richtig erklärt werden, denn die von mir dargestellten Präparate, welche jene Reaction gleichfalls nicht gaben, enthielten zweifellos keine Eiweissstoffe. Dass einige Präparate partiell die Färbung gaben, was mit den Angaben Richter's übereinstimmt, habe ich oben mitgetheilt (vergl. S. 537). Wenn aber auf Grund dieser Beobachtungen auch zugegeben werden muss, dass die Pilze in einigen Theilen ihrer Membranen eigentliche Cellulose enthalten, so kann doch Richter's Annahme, dass diese Membranen aus eigentlicher Cellulose beständen und dass Letztere nur desshalb die gewöhnlichen Reactionen nicht geben, weil sie Beimengungen enthalten, nicht als zutreffend erklärt werden; es geben demnach Richter's Beobachtungen keinen genügenden Grund, die Existenz einer besonderen Pilzcellulose, wie sie von de Bary angenommen wurde, zu verwerfen.

In gewisser Uebereinstimmung mit den von mir erhaltenen Versuchsergebnissen und den daraus gezogenen Schlussfolgerungen stehen die Beobachtungen, welche L. Mangin[1]) über das mikrochemische Verhalten der Membranen der Pilze macht — Angaben, auf die ich weiter unten zurückkommen werde.

---

[1]) Observations sur la constitution de la membrane chez les champignons. Compt. rend. 1893, CXVIII, Nr. 23, S. 816.

Ueber die durch verdünnte Säuren in Lösung zu bringenden Bestandtheile der Pilzmembranen.

Es ist bemerkenswerth, dass man aus den die Membranen einschliessenden Rückständen, welche bei Behandlung der feingepulverten Pilze mit Aether, Alkohol, Wasser verdünnter Lauge und sehr verdünnter kalter Säure zurückbleibt, sich durch heisse verdünnte Schwefelsäure Kohlenhydrat ausziehen kann, welche wohl kaum etwas anderes sein können, als Bestandtheile jener Membran. Im Folgenden beschreibe ich ein aus Boletus edulis dargestelltes Kohlenhydrat solcher Art, sowie auch die Ergebnisse, welche ich bei gleichem Vorgehen an Polyporus erhielt.

Boletus edulis. Der fein gemahlene Pilz wurde, wie auf S. 531 beschrieben, mit Alkohol Aether und Lauge extrahirt, den dabei verbliebenen Rückstand digerirte ich längere Zeit in der Wärme mit $2^1/_2$ procentiger Schwefelsäure; es bildete sich hierbei nach einiger Zeit eine dickflüssige, schleimige Lösung, die beim Erkalten zu einer Gallerte gestand. Um nun die Substanz, welche diese Erscheinung bedingte, vom ungelösten Theil des Rückstandes zu trennen, verdünnte ich die Flüssigkeit, um sie filtrirbar zu machen, mit viel Wasser, goss sie noch warm auf ein Seihtuch und liess das trübe, gelb gefärbte Filtrat einige Zeit in grossen Cylindern stehen, hierbei setzten sich die in Suspension gehaltenen feinen Theilchen zu Boden, die über dem Bodensatz sich befindende klare Lösung wurde nun abgehebert und auf dem Wasserbade bei gelinder Wärme eingeengt[1]), durch vorsichtiges Zufliessenlassen von 90—95 procentigem Alkohol zu der concentrirten Flüssigkeit bewirkte ich die Ausscheidung einer compacten Gallerte, welche sich nach einigem Stehen auf der Oberfläche ansammelte und leicht von der Flüssigkeit getrennt werden konnte. Diese Gallerte wurde nun behufs Entfernung der Schwefelsäure mit verdünntem Alkohol wiederholt ausgewaschen, darauf mit absolutem Alkohol und Aether behandelt und im Exsiccator getrocknet. Das so gewonnene

[1]) Die Substanz wird nur ausserordentlich langsam invertirt.

Product stellt eine weisse, bis hellgelbe amorphe, feinfaserige Masse dar, welche sich allmälig in 5procentiger Kalilauge löst. Blei-, Zink- oder Aluminiumsalze fällen aus dieser Lösung keine Gallerte, wohl aber Alkohol; in Kupferoxydammoniak ist sie nicht löslich. Verdünnte Schwefelsäure bildet bei längerem Kochen eine schleimige Lösung und bewirkt nur nach sehr langem Kochen eine Inversion; Chlorzinkjod oder Jod und Schwefelsäure färben die Substanz gelb, durch Behandeln mit einem Gemisch von Kaliumchlorat und Salzsäure vom specifischen Gewicht 1,05 und darauffolgendem halbstündigem Digeriren mit verdünntem Ammoniak bei 60° wird sie vollständig gelöst. Ob diese Substanz optisch activ ist, habe ich bisher nicht entscheiden können, da die alkalischen Lösungen opalisiren und gefärbt sind; die gewonnenen Präparate enthielten geringe Mengen Stickstoff.

Um nun die Elementarzusammensetzung des in Rede stehenden Körpers zu ermitteln, behandelte ich einen Theil der von mir dargestellten Präparate mit sehr verdünnter Kalilauge, entfernte dieselben durch Auswaschen mit Wasser, behandelte den Rückstand wieder mit Alkohol und Aether[1]). Die bei 105° getrocknete Substanz wurde im beiderseitig offenen Rohr, im Luft- beziehungsweise Sauerstoffstrom verbrannt. Ich erhielt hierbei folgende Resultate:

a) 0,2144 gr. Trockensubstanz gaben 0,3370 gr. CO_2 und 0,13466 gr. H_2O.
b) 0,1377 gr. Substanz gaben 0,225 gr. CO_2 und 0,0810 gr. H_2O.

Aus diesen Zahlen berechnet sich ein Gehalt von:

	I.	II.	Mittel.
C . . .	44,61 %	44,52 %	44,56 %
H . . .	6,28 »	6,05 »	6,16 »

Diese Zahlen stimmen ziemlich gut auf die Formel $C_6H_{10}O_5$.

[1]) Durch diese Behandlung, welche allerdings mit grossem Verlust an Substanz verbunden war, konnte ich ein nur wenig gefärbtes, nahezu stickstofffreies Präparat erhalten.

Es schien nun angezeigt, über die bei der Hydrolyse entstehenden Glucosen dieses Körpers Aufschluss zu gewinnen. Zu diesem Zwecke wurden 10 gr. Substanz mit 40 gr. 65proc. Schwefelsäure zusammengebracht, der hierbei entstandene dickflüssige Syrup nach 24 Stunden mit 1 Liter Wasser versetzt und die Flüssigkeit gekocht, die vermittelst Barythydrat von der Schwefelsäure befreite Flüssigkeit wurde vorsichtig auf dem Wasserbade eingeengt und der Syrup mit 95proc. Alkohol ausgezogen. Der weingeistige Extract wurde zur Verdunstung hingestellt; nach einigen Wochen hatten sich Krystalle abgesetzt, welche, wiederholt aus 95proc. Alkohol umkrystallisirt, das Verhalten des Traubenzuckers zeigten, wie aus folgenden Versuchsergebnissen zu schliessen ist. Eine wässrige Lösung, welche in 10 cbcm. 0,5612 gr. enthielt, drehte nach 24 Stunden bei Zimmertemperatur im 200mm-Rohr 15,9° S.-V. nach rechts, daraus berechnet sich $[\alpha]_D = + 48,93°$. Das specifische Drehungsvermögen reines Traubenzuckers beträgt in 10proc. Lösung + 52,74° in verdünnterer Lösung etwas niedriger; die Abweichung der von mir gefundenen Zahl ist aber nicht so bedeutend, dass sie nicht auf eine geringe Menge von Nebenproducten zurückzuführen wäre; leider war ich nicht im Besitz einer grösseren Quantität Zuckers, um denselben noch aus Aethyl- beziehungsweise Methylalkohol umzukrystallisiren, denn erst dadurch gelingt es bekanntlich, ganz reine Dextrose zu erhalten. Ein Theil der erhaltenen Krystalle nebst dem von den Krystallen abgepressten Syrup oxydirte ich nach der Vorschrift von Gans und Tollens mit Salpetersäure, führte das Oxydationsproduct in das Kaliumsalz über und stellte aus letzterem das Silbersalz dar. Bei der Silberbestimmung in demselben erhielt ich folgendes Resultat: 0,0408 gr. zuckersaures Silber gaben 0,02050 gr. Ag = 50,03 %. Das in bekannter Weise dargestellte Osazon schmolz bei 200,5°. Bei der Gährung mit Hefe gaben 0,1 gr. Substanz 13,8 cbcm. Gas, eine gleiche Quantität reinen Traubenzuckers gab 15 cbcm. Gas.

Soweit ich aus der mir zugänglichen Litteratur ersehen konnte, liegen keine Angaben über ein derartiges Kohlen-

hydrat vor[1]). Ich schlage desshalb vor, dasselbe einstweilen als Paradextran zu bezeichnen. Es ist sehr wahrscheinlich, dass dieses Kohlenhydrat den Hauptbestandtheil der «schleimigen oder gelatinösen Pilzmembran» ausmacht, für welche schon de Bary vermuthete, dass dieselben aus, der Cellulose nahestehenden, Kohlenhydraten bestehen. Durch die vorliegende Untersuchung ist wohl bewiesen, dass diese Vermuthung keine irrige war.

Polyporus officinalis. Auch dieses Object enthielt ein leicht in heissen verdünnten Säuren lösliches Kohlenhydrat, dasselbe ist leichter invertirbar als die im Vorigen beschriebene Substanz. Ich verfuhr folgendermassen: Der bei Extraction mit Aether, Alkohol und Laugen verbliebene Rückstand wurde auf dem Wasserbade mit einer grossen Quantität $2^1/_2$ proc. Schwefelsäure mehrere Stunden digerirt, die entstandene Lösung filtrirte ich vom Ungelösten ab und kochte die Flüssigkeit behufs vollständiger Inversion noch 3 Stunden am Rückflusskühler, die vermittelst Barythydrats von der Säure befreite zuckerhaltige Flüssigkeit wurde vorsichtig auf dem Wasserbade eingedampft und der dabei verbliebene Syrup mit 95 proc. Alkohol in der Wärme ausgezogen und zur Verdunstung über Schwefelsäure gebracht; nach mehreren Wochen hatten sich Krystalle ausgeschieden, welche aus Weingeist umkrystallisirt die Eigenschaften der Dextrose zeigten. Bei der Oxydation mit Salpetersäure entstand Zuckersäure. Die Silberbestimmung im letzteren gab folgendes Resultat: 0,1200 gr. Silbersalz gab 0,0605 gr. Ag = 50,41 %. Das Osazon, in bekannter Weise dargestellt, schmolz bei 202°. Bei der Gährung mit Hefe lieferten mir 0,1 gr. Substanz 13,9 cbcm. CO_2, die gleiche Quantität reinen Traubenzuckers gab 14,5 (bei gleichen Versuchsbedingungen), also liegt Traubenzucker vor.

[1]) Nach Boudier (Die Pilze, Th. Husemann, Berlin 1867) enthalten verschiedene Hutpilze einen dem Flohsamen ähnlichen Stoff, welchen er Viscosin nennt. Champignon hat in einem unterirdischen Pilz-Fouhling aus China eine Substanz von der Formel $C_{20} H_{48} O_{28}$ aufgefunden, welche, mit verdünnter Säure behandelt, eine die Fehling'sche Lösung reducirende Flüssigkeit liefert. Die Pflanzenstoffe. Husemann, S. 281.

Es darf wohl angenommen werden, dass dieses durch verdünnte Säuren in Lösung zu bringende Kohlenhydrat ein Bestandtheil der Membranen dieses Pilzes ist. Bekanntlich bezeichnet E. Schulze[1]) die durch heisse verdünnte Säuren leicht in Lösung gehenden Bestandtheile der pflanzlichen Membranen als Hemicellulosen; es darf wohl nicht als uninteressant bezeichnet werden, dass auch die Membranen der Pilze solche Hemicellulosen einschliessen.

Die anderen Objecte, welche ich in Bereich meiner Untersuchung gezogen hatte, ergaben beim Kochen mit verdünnter Schwefelsäure ebenfalls grosse Quantitäten glucosehaltiger Flüssigkeiten, doch habe ich dieselben bis jetzt noch nicht zur Krystallisation bringen können. Dieselben gaben beim Erhitzen mit essigsaurem Phenylhydrazin Osazone, welche bei 200—202° schmolzen und es ist wahrscheinlich, dass diese Syrupe Traubenzucker einschliessen.

Diese Resultate gewinnen an Interesse, wenn man die Ergebnisse, welche Mangin bei Untersuchung der Pilzmembranen auf mikrochemischem Wege erhalten hat, mit meinen Resultaten vergleicht. Derselbe gelangt zum Schluss, dass diese Membranen aus Pectinkörper, Cellulose und Callose bestehen; es ist möglich, dass die ersteren mit den von mir gefundenen Hemicellulosen übereinstimmen. Die Cellulose habe ich, wie schon mitgetheilt, auch mikrochemisch nachweisen können, was die chemische Natur der Callose betrifft, welche L. Mangin auch in den Siebröhren der Phanerogamen nachgewiesen hat, lässt sich aus den vorliegenden Angaben noch nichts sagen.

---

[1]) Diese Zeitschrift, Bd. 16, S. 387.

Die Säuren der menschlichen Galle.

Von

Lassar-Cohn.

(Der Redaction zugegangen am 10. Mai 1894.)

Die Säuren, welche die menschliche Galle enthält, nachdem aus ihren Paarlingen das Taurin und das Glycocoll — sei es durch Fäulniss, oder wie es später bei der Verarbeitung von Gallen gebräuchlich geworden ist, durch Kochen mit Alkalien — abgespalten ist, haben lange Zeit für unkrystallisirbar gegolten. Bayer glaubte als Erster eine reine krystallisirte Säure aus ihr in Händen gehabt zu haben, worüber er das Nähere in dieser Zeitschrift[1]) mitgetheilt hat. Schotten[2]) bewies dann, dass jener es mit einem Gemisch von Säuren zu thun hatte, das er in zwei Säuren — Fellinsäure und Cholalsäure — zu zerlegen vermochte.

Nachdem es mir[3]) gelungen war, die in der mit Natronlauge gekochten Rindergalle vorkommenden Säuren qualitativ und quantitativ festzustellen, wurde die Methode, welche zu diesem Ziele geführt hatte, auf die menschliche Galle übertragen.

Herr Prof. Nauwerck, dem es gestattet sei, auch an dieser Stelle meinen Dank dafür auszudrücken, hatte längere Zeit hindurch die bei den hiesigen pathologischen Sectionen

---

[1]) Band 2, S. 358 und 293.

[2]) Diese Zeitschrift, Band 10, S. 175 und Bd. 11, 268.

[3]) Diese Zeitschrift, Band 16, S. 488, Bd. 17, S. 67 und 607.

erhaltene, also ziemlich frische Galle sammeln lassen. Sie wurde stets in ein Gefäss gegossen, in welchem sich eine reichliche abgemessene Menge von 10proc. Kalilauge befand. Im Ganzen standen mir während der Arbeit 2580 cbcm. Galle zu Gebote, die in zwei Portionen, einmal 1580 cbcm. und das andere Mal 1000 cbcm. zur Verarbeitung gelangten. Zu dem Zwecke wurde der Gehalt der Lösung an Kaliumhydroxyd auf etwa 6% gebracht und sie alsdann 24 Stunden in einem eisernen mit Deckel versehenen Topfe unter Ersatz des verdampfenden Wassers im Sieden erhalten. Die Methode weicht insofern von der Mylius'schen[1]) Gallenverarbeitung ab, als er Natronlauge zu verwenden empfohlen hat, doch erleichtert die Kalilauge, wie wir gleich sehen werden, das quantitative Arbeiten. Die Weiterverarbeitung der Lösung erfolgt nämlich so, dass das Alkali mit Kohlensäure abgestumpft und die Lösung hierauf auf dem Wasserbade möglichst weit abgedampft wird. Dem Rückstand entzieht dann etwa 90proc. Alkohol die organischsauren Alkalisalze quantitativ. Hat man ursprünglich Natronlauge verwendet, so sind schliesslich grosse Mengen festen Natriumcarbonats zu extrahiren, während der nach Verwendung von Kalilauge vorhandenen Pottaschelösung die organischsauren Salze durch Schütteln mit Alkohol im Scheidetrichter entzogen werden können.

Die alkoholische Schicht setzt sich ganz gut ab, und nach dreimaligem Extrahiren gibt eine Probe der Pottaschelösung nach dem Verdünnen auf Zusatz von Salzsäure keinen Niederschlag mehr, folglich sind dann in ihr keine Salze von festen organischen Säuren mehr vorhanden.

Die erhaltene alkoholische Lösung wird hierauf mit der vierfachen Menge Wasser verdünnt und ihr so lange eine etwa 10proc. Chlorbaryumlösung zugefügt, als diese noch eine Fällung hervorbringt.

Die von den auf diesem Wege erhaltenen Baryumsalzen durch Filtration getrennte Flüssigkeit gab alsdann auf Zusatz von verdünnter Salzsäure eine harzige Fällung, die aus der Flüssigkeit herausgenommen und auf dem Wasserbade mit

---

[1]) Diese Zeitschrift, Band 12, S. 222.

etwas Alkohol durchgearbeitet wurde, in der Hoffnung, dass sie nach dieser von Mylius[1]) für die Verarbeitung der Rindergalle empfohlenen Procedur unter Ausscheidung eines letzten Restes von Wasser sehr bald hart werden würde. Statt dessen ging sie in eine Art von schwarzem Theer über, der überhaupt nicht mehr erstarrte.

Die aus der Rindergalle auf diesem Wege erhaltene Rohsäure gibt sofort die von Mylius aufgefundene merkwürdige Reaction der Blaufärbung mit einer Lösung von Jod in Jodkalium. Ich stelle diese Reaction so an, dass ich ein wenig der zu prüfenden Substanz in einem Porzellanschälchen mit einigen Tropfen absoluten Alkohols übergiesse und diesen alsdann abdampfe. Giesst man hierauf in das Gefäss eine nicht sehr starke Lösung von Jod in Jodkalium, so färben sich die Stellen, an denen sich die eingetrocknete Cholalsäure befindet, blau.

Da nun die aus der menschlichen Galle erhaltene Rohsäure diese Reaction nicht gibt — ein Verhalten, das ich sehr häufig constatirt habe —, man sie aber sogleich erhält, wenn man ihr absichtlich eine Spur von Cholalsäure aus Rindergalle zusetzt, blieb ich sehr lange der Meinung, dass, trotz der durchaus dagegen sprechenden sehr genauen Angaben Schotten's[2]), in der menschlichen Galle Cholalsäure nicht vorkäme, eine fälschliche Annahme, die sich erst so spät aufklärte, dass ich aus Mangel an Material nicht mehr im Stande war, dies sehr merkwürdige Verhalten der Rohsäure aus menschlicher Galle aufzuklären.

---

[1]) Wie ich später fand, verschwindet ein sehr grosser Theil der Cholalsäure dann beim Umkrystallisiren in den alkoholischen Mutterlaugen, indem er in den nicht mehr auskrystallisirenden Cholalsäureester übergeht. (Diese Zeitschr., Bd. 16, S. 497 und Bd. 17, S. 613). Der hierdurch herbeigeführte Verlust wird aber sehr viel geringer, wenn man die rohe Cholalsäure aus der Rindergalle vor der Behandlung mit dem Alkohol auf dem Wasserbade mit einigen Tropfen Ammoniak zur Abstumpfung ihr noch anhaftender Salzsäure verreibt, dann härtet, und nun erst umkrystallisirt, worauf sie sogleich in prachtvollen Octaedern anschiesst.

[2]) Diese Zeitschrift, Band 10, S. 184.

Da für die Rohsäure von der erwähnten Beschaffenheit Eisessig das geeignetste Krystallisationsmittel zu sein schien, wurde sie in diesem unter Zusatz von Thierkohle, die aber sich als fast wirkungslos erwies, umkrystallisirt. Nach 2 Tagen zeigten sich einige mikroskopisch wohl ausgebildete Krystalle, deren Menge nach 6 Tagen nicht weiter zuzunehmen schien. An der Pumpe abgesogen und mit etwas Eisessig gewaschen wogen sie 3,5 gr. Da sie in Aceton löslich waren, wurden sie in diesem gelöst und der Lösung, um reichlicheres Krystallisiren zu veranlassen, Petroläther zugefügt. Nach mehrmaligem Umkrystallisiren zeigten sie sowohl als der Rückstand der letzten Mutterlauge den Schmelzpunkt 169°. Zum letzten Umkrystallisiren waren Aceton und Petroläther frisch destillirt worden, damit nicht ein etwaiger Harzgehalt dieser den Schmelzpunkt des Mutterlaugenrückstandes beeinflusse.

Die sicher chemisch reine Säure erscheint unter dem Mikroskop, wenn sie aus Eisessig umkrystallisirt wird, in welchem sie beim Erwärmen ausserordentlich leicht löslich ist, entweder in einzelnen Prismen krystallisirt, oder ihr Aussehen erinnert, falls diese Prismen von einem Mittelpunkte ausgehen, an Kreatininchlorzink. Sie ist absolut ohne Geschmack im Gegensatz zur ausserordentlich bitter schmeckenden Cholalsäure, und gibt also nicht die Blaufärbung mit einer Jodlösung. Beim Reiben wird sie derart electrisch, dass sie theilweise aus der Schale springt. Alle diese äusseren Eigenschaften erinnern durchaus an die Fellinsäure Schotten's, nur gibt dieser deren Schmelzpunkt, den er allerdings an einer amorphen Portion bestimmte, zu 120° an. Nachdem constatirt war, dass sie frei von Schwefel und Stickstoff ist, wurde sie analysirt. Zuerst wurde sie bei 120° zu trocknen gesucht, aber Gewichtsconstanz war nicht zu erreichen und es zeigte sich, dass sie jetzt nicht mehr völlig alkalilöslich war, folglich sie diese Temperatur nicht ohne Zersetzung erträgt; darauf wurde sie im stark luftverdünnten Raume bei 80° getrocknet.

0,2072 gr. Substanz gaben 0,5504 gr. CO_2 und 0,1900 H_2O.
0,1777 » » » 0,4756 » » » 0,1555 »

Berechnet für $C_{23}H_{40}O_4$:	Gefunden:	
C = 72,63.	C = 72,39	72,98.
H = 10,53.	H = 10,10	9,74.

Die Formel $C_{23}H_{40}O_4$ hat Schotten der von ihm in der Menschengalle aufgefundenen Gallensäure, die er Fellinsäure genannt hat, beigelegt, weil er in seinen Analysen 0,3—0,4 % Wasserstoff mehr als oben angegeben gefunden hat. Er weist schon selbst darauf hin, dass, wenn die Analysen zur Formel $C_{23}H_{38}O_4$ passen würden, welche 73,02 % C und 10,05 % H verlangt, sich diese Säure als das nächst niedrigere Homologe der Choleïnsäure erweisen würde, während nach seiner Formel kein näherer Zusammenhang zwischen den drei jetzt sicher bekannten specifischen Gallensäuren:

Cholalsäure $C_{24}H_{40}O_5$,
Choleïnsäure $C_{24}H_{40}O_4$,
Fellinsäure $C_{23}H_{38}O_4$.

zu erkennen ist. Da nun meine Analysen mit sicher chemisch reiner Substanz angestellt sind und deren Wasserstoffgehalt weit besser auf die Formel $C_{23}H_{38}O_4$ passt, wird man der Fellinsäure wohl richtiger diese Formel zuerkennen. Die wenigen vorliegenden Analysen können natürlich diese Frage nicht mit Sicherheit entscheiden. Auch ihre Aufklärung muss der Beschaffung von weit mehr Substanz unter Zuhülfenahme der bisherigen Ergebnisse vorbehalten bleiben.

Die Mutterlauge von der Fellinsäure, die durch Wascheisessig verdünnt war, wollte weder so noch nach Zugabe von Wasser, nachdem sie bis zum Sieden erhitzt war, krystallisiren. Als dann die zweite Portion Galle, auf gleichem Wege verarbeitet, wieder Rohsäure geliefert hatte, gelang es überhaupt nicht, aus ihr Krystalle zu gewinnen und wurde sie desshalb mit der Mutterlauge der ersten zusammen weiterverarbeitet.

Zur Entfernung der Essigsäure wurde sie in Natronlauge gelöst und aus dieser Lösung durch Salzsäurezusatz die Gallensäuren wieder ausgefällt. Es zeigte sich, dass sie beim Ausschütteln mit alkoholhaltigem Aether fast ganz in diesen übergingen.

Die geringe Menge an ungelöst bleibendem Harz blieb an dem Papier, durch das die Flüssigkeit filtrirt wurde, so fest haften, dass es mit sammt dem Filter mit Barytwasser ausgekocht werden musste. Nachdem dann die Lösung durch Einleiten von Kohlensäure vom Ueberschuss des Barythydrats befreit war, wurde ihr Filtrat im Exsiccator verdunsten gelassen. Es hinterblieben schliesslich einige braune Krystalle, deren Menge für jede Art von Untersuchung zu gering war.

Die ätherische Lösung liess sich durch Thierkohle schon in der Kälte fast völlig entfärben und wurde mit Chlorcalcium getrocknet. Der nach dem Abdestilliren des Aethers hinterbleibende Rückstand ward sodann in Aceton gelöst und der Lösung Petroläther zugefügt. Es schied sich ein helles Harz aus, in dem sich einige Krystalle befanden. Nach 10 Tagen wurden die letzteren durch Filtration und Nachwaschen mit etwas Aceton vom Harz getrennt. Sie erwiesen sich als Fellinsäure.

Das auf dem Wasserbade getrocknete Harz wog jetzt 17 gr. Es gelang nicht, es aus irgend einem Lösungsmittel in krystallisirtem Zustande zu erhalten. So wurde es denn in Ammoniakwasser gelöst und die concentrirte Lösung mit Baryumchloridlösung im Ueberschuss gefällt. In Rücksicht auf die harzige Beschaffenheit des Niederschlages wurde die ganze Flüssigkeit auf dem Wasserbade zur Trockne gedampft. Der Rückstand erwies sich als zerreiblich und wurde an der Pumpe bis zum Verschwinden der Chlorreaction ausgewaschen.

Von dem auf dem Filter gebliebenen Baryumsalze zeigte es sich, dass es sich aus verdünntem Alkohol, und zwar am besten aus 40 proc., umkrystallisiren liess. Von verschiedenen während des Umkrystallisirens, das mit vielem Verlust verknüpft war, erhaltenen Salzportionen wurden Baryumbestimmungen gemacht (siehe die Zahlen weiterhin), die einen für fellinsaures Baryum viel zu geringen Metallgehalt ergaben.

Desshalb wurden diese Portionen durch längeres Erhitzen mit einer Natriumcarbonatlösung im Wasserbade ins Natriumsalz der Säure übergeführt, und dessen Lösung sodann durch Salzsäure zerlegt. Die Fällung ging beim Ausschütteln vollständig in alkoholhaltigen Aether über.

Der Rückstand des Extractionsmittels wurde sodann in absolutem Alkohol gelöst und dieser im Exsiccator abdunsten gelassen. Dabei schieden sich nun, ganz wider Erwarten, prachtvolle Krystalle aus, die namentlich unter dem Mikroskop betrachtet, sich als identisch mit den Octaedern erwiesen, die Schotten[1]) in seiner Arbeit hat abbilden lassen. Diese krystallisirte Säure gab auch die Blaufärbung mit der Lösung von Jod in Jodkalium und zeigte alle sonstigen Eigenschaften, die ihre Identität mit der Cholalsäure aus Rindergalle zweifellos erscheinen lassen. Sie krystallisirt mit einem Molekül Krystallalkohol, und ihre eigene Analyse sowohl, wie die ihres Baryumsalzes, lieferten die entsprechenden Zahlen:

0,2128 gr. verloren beim Trocknen bis zur Gewichtsconstanz 0,0229 gr.

Berechnet für $C_{24}H_{40}O_5 + C_2H_6O$:	Gefunden:
C_2H_6O = 10,13 %.	10,75 %.

0,1899 gr. gaben 0,4916 gr. CO_2 und 0,1697 H_2O.

Berechnet für $C_{24}H_{40}O_5$:	Gefunden:
C = 70,59	70,61.
H = 9,80	9,95.

0,7676 gr. trockenes Baryumsalz lieferten 0,1861 gr. $BaSO_4$ entsprechend 14,26 % Ba.

0,7783 gr. trockenes Baryumsalz lieferten 0,1874 gr. $BaSO_4$ entsprechend 14,17 % Ba.

0,7090 gr. trockenes Baryumsalz lieferten 0,1708 gr. $BaSO_4$ entsprechend 14,16 % Ba.

Berechnet für $(C_{24}H_{39}O_5)_2Ba$	Gefunden:
Ba = 14,40	Ba = 14,16 14,17 14,26

Hiermit ist nun die Gegenwart der Cholalsäure in der menschlichen Galle, trotzdem die Rohsäure die Blaufärbung mit einer Jodlösung nicht gibt, erwiesen.

Die schliessliche alkoholische Restmutterlauge des Baryumsalzes der Cholalsäure wurde mit Natriumcarbonat im Wasserbade abgedampft, und mit Wasser das organischsaure Natriumsalz wieder in Lösung gebracht. Salzsäurezusatz lieferte eine

[1]) Diese Zeitschrift, Band 10, S. 185.

flockige Fällung, die in keiner Weise zum Krystallisiren zu bringen war, indem sie bei ihrer Leichtlöslichkeit in Eisessig aus diesem ihrer geringen Menge halber nicht krystallisirt werden konnte.

Schliesslich wurde die Fällung, welche ihre Acetonlösung mit Petroläther gab, bei 80° im luftverdünnten Raume bis zur Gewichtsconstanz getrocknet und analysirt.

0,1957 gr. gaben 0,5215 CO_2 und 0,1778 H_2O.
0,2123 » » 0,5643 » » 0,1875 »

Berechnet für $C_{23}H_{38}O_4$:	Gefunden:	
C = 73,02	C = 72,67	72,49.
H = 10,05	H = 10,05	9,81.

Aus der Analyse folgt, obgleich sie mit einem nicht krystallisirten Material, das aber durchaus frei von jedem bitteren Geschmack war, ausgeführt werden musste, dass hier wiederum Fellinsäure vorliegt. Daraus ergibt sich denn weiter, dass die Rohsäure aus Cholalsäure und Fellinsäure besteht, diesen beiden aber, da eine völlige Aufarbeitung der Mutterlaugen erfolgt ist, eine weitere Säure nicht beigemengt ist. Meiner Schätzung nach ist in ihr etwas mehr Fellinsäure als Cholalsäure enthalten.

Die im Anfang erwähnten Baryumsalze mussten also alle weiteren in der mit Alkalien gekochten menschlichen Galle vorkommenden Säuren enthalten. Sie wurden ganz, wie seiner Zeit bei der Rindergalle verfahren worden war, der Weiterverarbeitung unterworfen. Sie wurden also sammt den Filtern, auf denen sie sich befanden, längere Zeit mit zwei Litern zweiprocentiger Natriumcarbonatlösung gekocht. Die heisse Lösung wurde an der Pumpe filtrirt, und erstarrte nach dem Erkalten zu einem Seifenleim, der auf dem Wasserbade möglichst zur Trockne gedampft wurde. Der Rückstand ward darauf dreimal mit 80procentigem Alkohol extrahirt, und aus diesem schieden sich beim Erkalten reichliche Mengen von C h o l e s t e r i n aus.

Dies ist wiederum ein Punkt, in welchem sich die menschliche Galle von der Rindergalle unterscheidet, bei der

ich trotz der sehr grossen Mengen, die ich nach dem gleichen Verfahren verarbeitet habe, niemals auch nur Spuren von Cholesterinkrystallen erhalten habe.

Die alkoholische Lösung wurde zur Trockne gedampft, der Rückstand mit Wasser aufgenommen, und die wässerige Lösung zur Entfernung von noch etwa vorhandenem Cholesterin mit Aether extrahirt, nachdem ein Versuch mit Chloroform zu Emulsionsbildung geführt hatte. Die Lösung enthielt jetzt sicher die Natriumsalze der Fettsäuren, und um letztere abzuscheiden, ward sie nach dem Aufkochen auf 0,5 l verdünnt, und nunmehr fractionirt mit je 5 cbcm. Normalbaryumchloridlösung ausgefällt.

Die so erhaltene erste Fällung wurde durch verdünnte Salzsäure zerlegt, und die beim Erkalten erstarrende Säure aus Alkohol umkrystallisirt, zeigte den Schmelzpunkt 59,5°. Die geringe Menge der Säure wurde mit Hülfe von Baryumchloridlösung nochmals in zwei Theile zerlegt. Die erste Portion lieferte eine Säure vom Schmelzpunkt 62,5°, die zweite schmolz bei 57,0°, Es liegt also, wie erwartet werden musste, ein Gemenge von Stearinsäure und Palmitinsäure vor.

Die Zugabe von weiteren 5 cbcm. der Normalbaryumchloridlösung lieferte ein zweites Salz, das in gleicher Weise wie das erste behandelt, eine Säure vom Schmelzpunkt 57,0° lieferte, die wiederum weiter zerlegt in eine Säure vom Schmelzpunkt 58,2° und eine zweite vom Schmelzpunkt 55,0° überging. Auch hier handelt es sich also um ein Gemisch von Stearinsäure und Palmitinsäure, in welchem nunmehr aber die Palmitinsäure vorwiegt.

Eine weitere Zugabe von 2,5 cbcm. Normalbaryumchloridlösung genügte zum Ausfällen des Restes der Fettsäuren. Aus der durch Salzsäure wieder zerlegten Fällung schied sich eine ölige, nicht mehr erstarrende Säure ab. Zum Beweise, dass Oelsäure vorliegt, wurde sie in ein wenig Natronlauge gelöst und das aus dieser Lösung niedergeschlagene Bleisalz mit Aether extrahirt. Der Aetherextract ward sodann mit $CaCl_2$ getrocknet und nunmehr in ihn Schwefelwasserstoffgas geleitet, was die Abscheidung von reichlichen Mengen Schwefel-

blei zur Folge hatte. Das Fitrat von diesem hinterliess nach dem Verdunsten des Aethers die Säure wiederum als Oel, wonach sicher Oelsäure vorliegt.

Die Verwendung der Normalbaryumchloridlösung zur Ausfällung der Fettsäuren ermöglicht die Berechnung der Menge, in welcher sie in der Menschengalle vorkommen. 1580 cbcm. Galle hatten soviel von ihnen geliefert, dass zu ihrer Ausfällung 12,5 cbcm. von jener nöthig gewesen waren. Dies entspricht, wenn man als Mittelformel für diese Säuren die der Palmitinsäure $C_{16}H_{32}O_2$ zu Grunde legt, 3,20 gr. Säure, oder auf Procentgehalt umgerechnet, 0,203 %.

Die auf dem angegebenen Wege von den Fettsäuren befreite Lösung wurde, um sie auf weitere in ihr noch vorhandene, der Galle entstammende Säuren untersuchen zu können, wiederum nach Zugabe von Natriumcarbonatlösung eingedampft und zur Gewinnung der organischsauren Natriumsalze mit Alkohol extrahirt. Der Rückstand des alkoholischen Extracts enthielt, wie ein Vorversuch zeigte, ein Säuregemenge, das nicht zum krystallisiren zu bringen war, desshalb wurde seine concentrirte wässrige Lösung wieder mit Baryumchlorid ausgefällt.

Die Fällung liess sich durch Auskochen mit Alkohol in zwei Salze zerlegen, indem ein Theil in Lösung ging, ein anderer ungelöst blieb.

Aus dem ungelöst gebliebenen Theil ist es trotz aller aufgewandten Mühe nicht möglich gewesen, eine krystallisirte Säure zu erhalten, die Gesammtmenge der in ihm enthaltenen harzigen Säure betrug 1,8 gr.

Das in Alkohol lösliche Baryumsalz liefert dagegen in folgender Art schliesslich eine Säure und zwar Choleïnsäure in krystallisirtem Zustande.

Es wurde in der schon häufig erwähnten Art wieder ins Natriumsalz verwandelt und dessen wässrige, stark verdünnte Lösung fractionirt mit je 15 cbcm. $^1/_{10}$ Normalschwefelsäure ausgefällt. Das führte zu sieben Fällungen. Die einzelnen Fällungen wurden stets der Flüssigkeit durch Ausschütteln

mit alkoholhaltigem Aether entzogen und aus den so erhaltenen sieben Lösungen auf dem Wasserbade das Lösungsmittel abdestillirt. Die Rückstände wurden in Aceton gelöst und durch Zugabe von Thierkohle und Chlorcalcium entfärbt und getrocknet. Nachdem aus den filtrirten Lösungen das Aceton abdestillirt war, erstarrten im Laufe von 2 Stunden die Portionen 3, 4, 5 und 6 krystallinisch, während 1, 2 und 7 nicht zum Krystallisiren zu bringen gewesen sind.

Der Schmelzpunkt der Krystalle war nach mehrmaligem Umkrystallisiren aus Aceton unter nachherigem Petrolätherzusatz schliesslich 149° und der des letzten Mutterlaugenrückstandes wich nicht viel von ihm ab. Ihre Menge war nur noch sehr gering und wurde zu einer Elementaranalyse verwandt, welche bestätigte, dass Choleïnsäure vorliegt.

0,1192 gr. gaben 0,3238 CO_2 und 0,1119 H_2O.

Berechnet für $C_{24}H_{40}O_4$:	Gefunden:
C = 73,47	C = 74,07.
H = 10,21	H = 10,44.

Das Verhalten der Säure ist ganz das der Choleïnsäure aus Rindergalle, und da diese Säure auf dem ganz gleichen Wege und unter denselben Arbeitsbedingungen[1]) von mir aus der Rindergalle gewonnen worden ist, ist es nicht zu bezweifeln, dass diese beiden Säuren mit einander identisch sind.

Aus dem Mitgetheilten folgt also, dass neben sehr wenigem nicht krystallisirbaren sauren Harz in der mit Alkalien gekochten Menschengalle folgende organische Säuren vorkommen:

Fellinsäure,
Cholalsäure,
Choleïnsäure,
Stearinsäure,
Palmitinsäure,
Oelsäure,

Königsberg. Institut für medicinische Chemie und Pharmakologie.

---

[1]) Diese Zeitschrift, Band 17, S. 607.

Apparat zur Messung der respiratorischen Aufnahme und Abgabe von Gasen am Menschen nach dem Principe von Regnault.

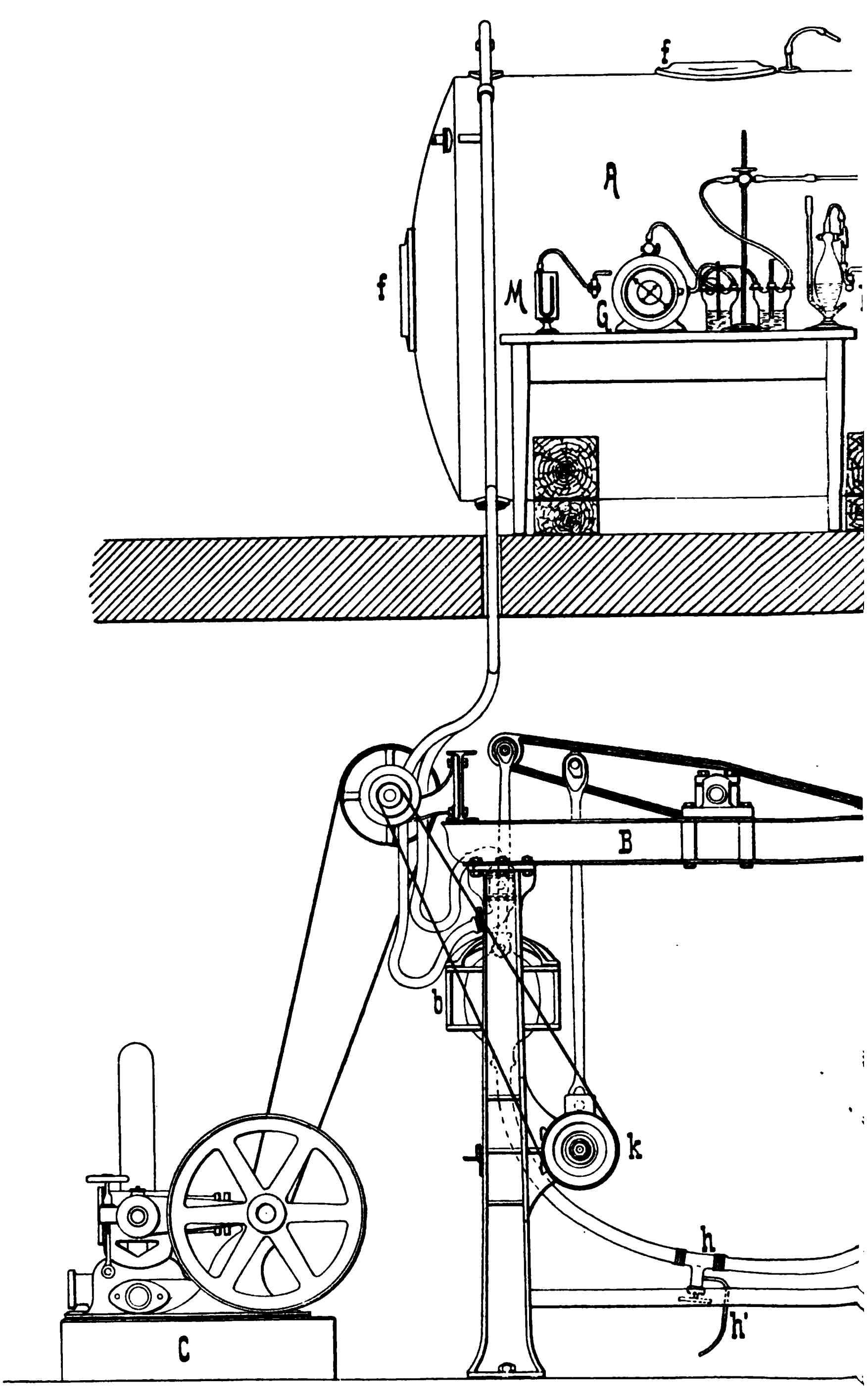
Von

F. Hoppe-Seyler.

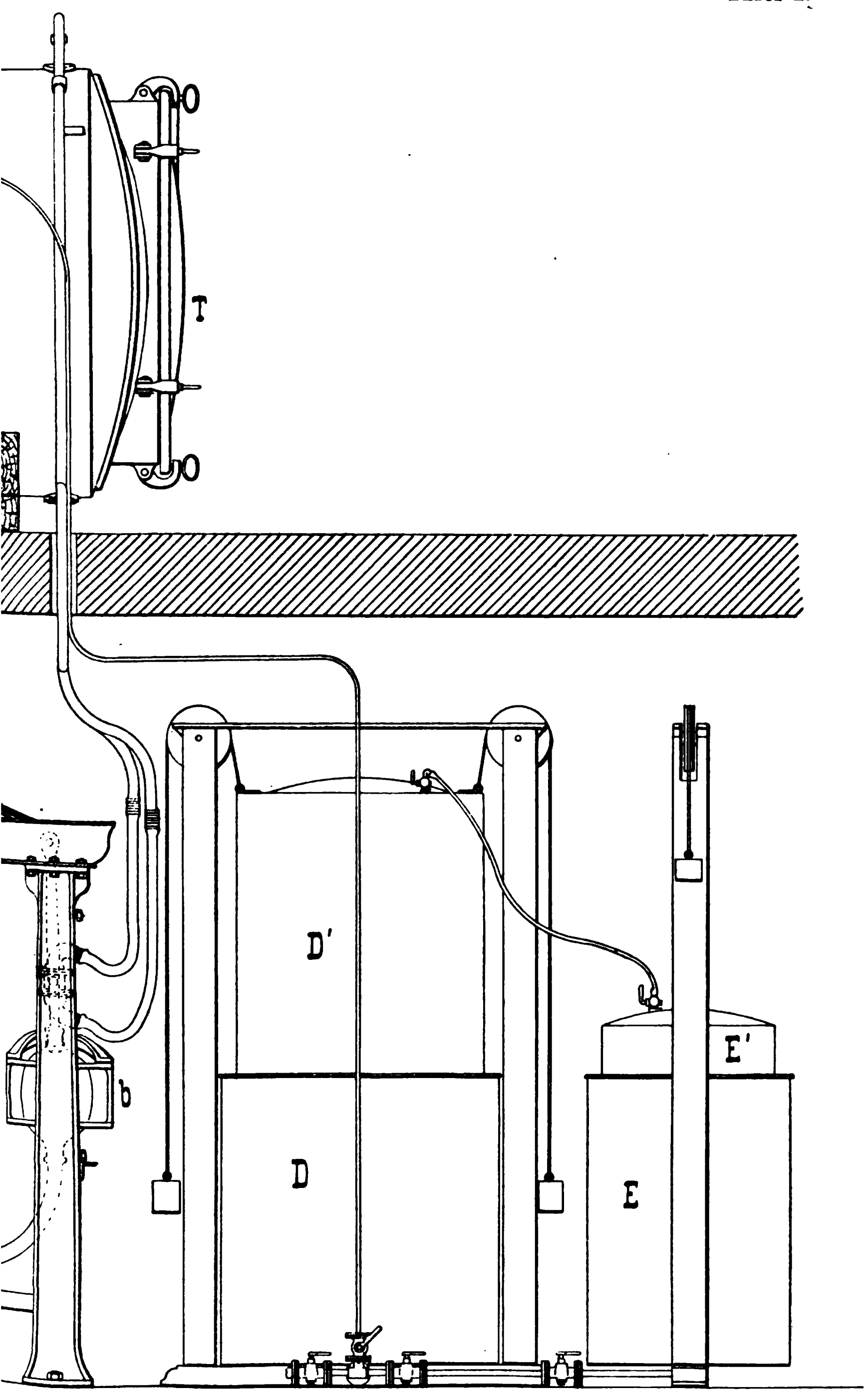
(Mit zwei Tafeln.)

Im Jahre 1849 erschien in den Annales de Chimie et de Physique, Ser. 3, T. 26, eine Abhandlung, betitelt: Recherches chimiques sur la respiration des animaux des diverses classes par V. Regnault et J. Reiset, eine Arbeit, in gleicher Weise hervorragend durch vorzügliche neue Methoden für die physiologische Forschung auf diesem wichtigen Gebiete wie durch die werthvollen mittelst derselben gefundenen physiologischen Thatsachen. Bei den sehr zahlreich angestellten Versuchen befindet sich das Versuchsthier in einem allseitig abgeschlossenen Luftraume unter einem gegen die äussere Atmosphäre etwas erhöhten Drucke bei constant erhaltener angemessener Temperatur; die von ihm ausgeschiedene Kohlensäure, auch das mit der Expiration ausgeschiedene Wasser werden fortwährend der Luft der Umgebung des Thieres entzogen, der von ihm aufgenommene Sauerstoff wird entsprechend der Abnahme der Gesammttension der Luft ersetzt durch gemessene Quantitäten reinen Sauerstoffs. Die Analyse einer Luftprobe aus der Umgebung des Thieres entnommen am Ende des Versuchs, zusammen mit der Menge der in der Kalilauge aufgenommenen Kohlensäure und Wasser, sowie des in der Versuchszeit eingeströmten Sauerstoffes ergeben



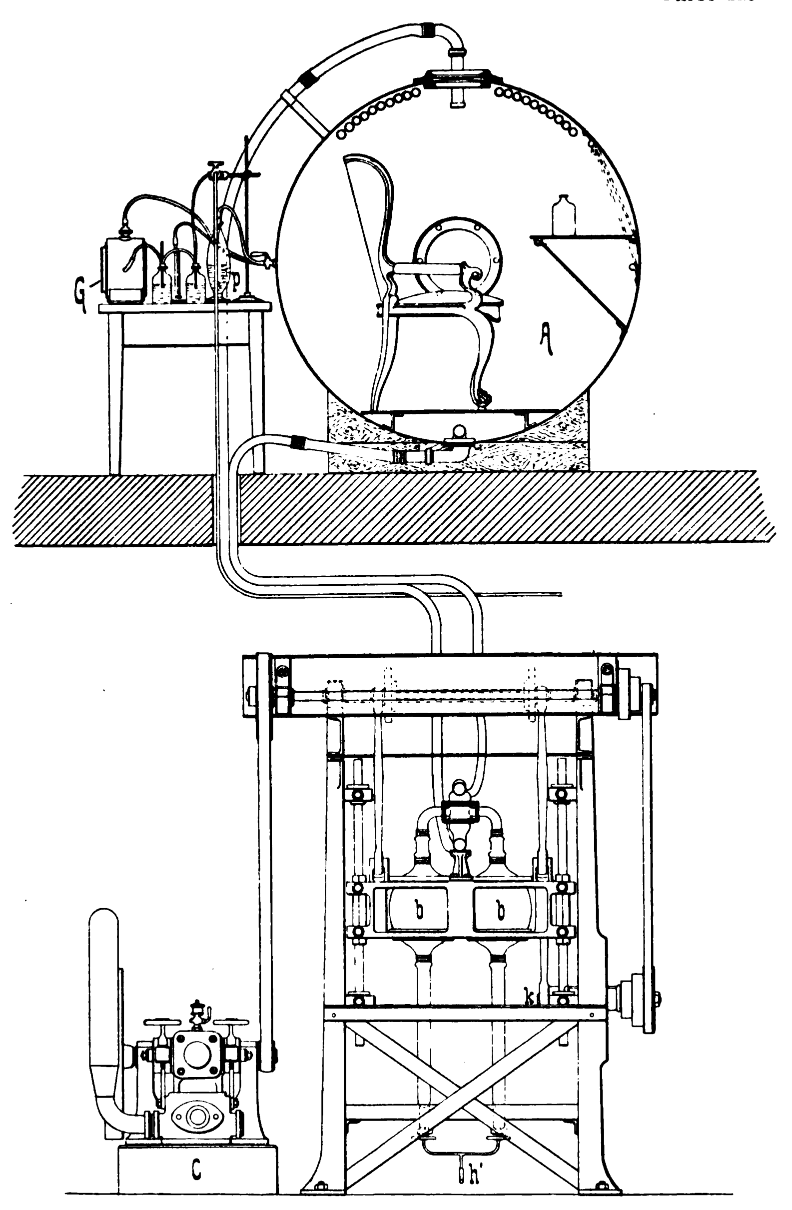


«Hoppe-Seyler. Apparat zur Messung der respiratorischen Aufnahme und Abgabe von Gasen am Menschen nach dem Principe von Regnault».

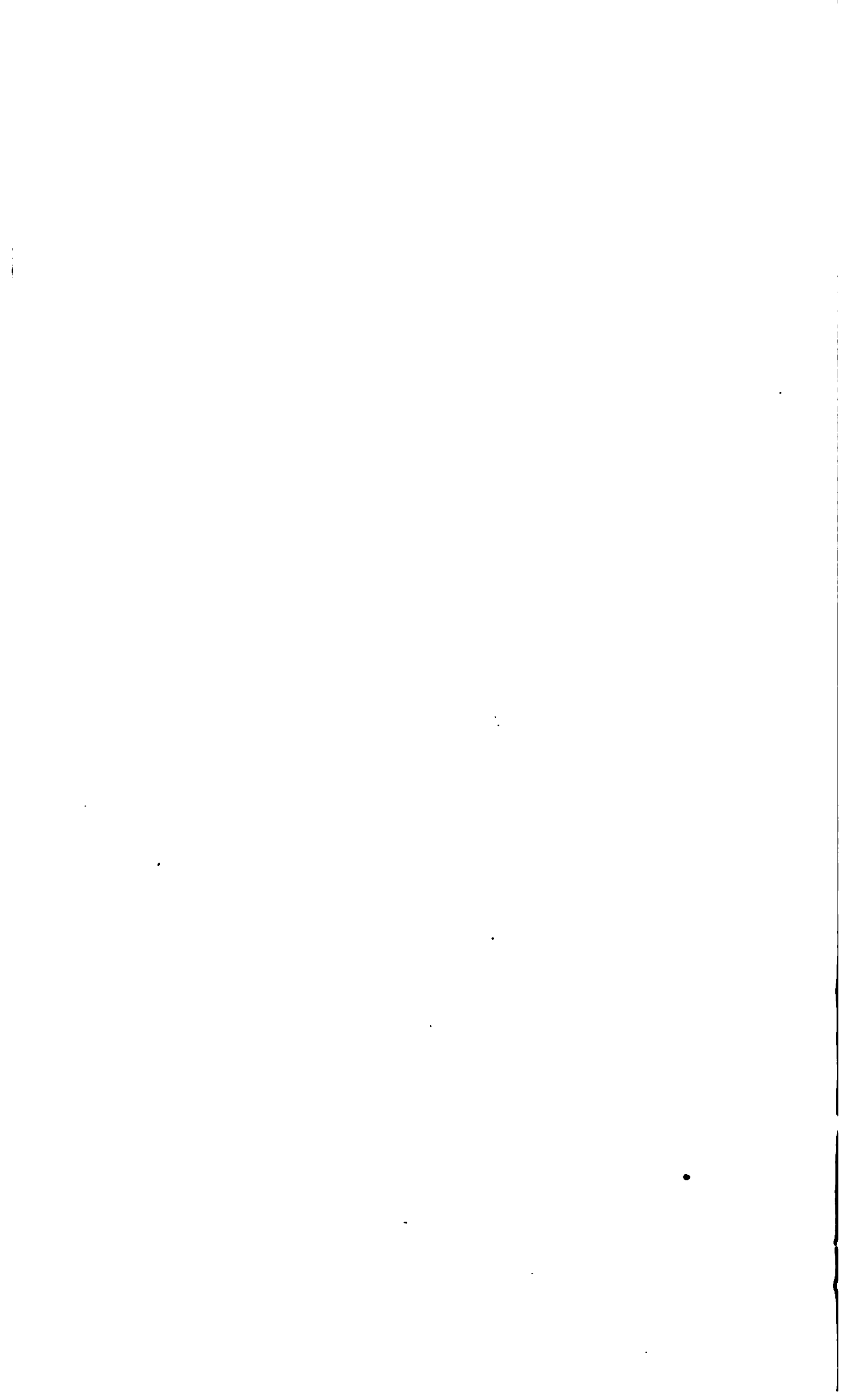


Verlag von KARL J. TRÜBNER, Strassburg.

Tafel II.



«Hoppe-Seyler. Apparat zur Messung der respiratorischen Aufnahme und Abgabe von Gasen am Menschen nach dem Principe von Regnault».



die Daten, aus welchen der ganze respiratorische Stoffwechsel klar ersichtlich wird.

Das Thier wird durch den Versuch selbst in keiner Weise belästigt, es kann bei angemessener Grösse des allseitig geschlossenen Behälters 24 Stunden und länger in der Untersuchung bleiben, ohne, abgesehen von der Einkerkerung, in seinem Wohlbefinden geschädigt zu werden.

Die von Regnault für diese experimentalen Untersuchungen eröffneten Wege der Forschung konnten nicht verfehlen, die Aufmerksamkeit der Physiologen in hohem Grade in Anspruch zu nehmen und zur weiteren Verfolgung derselben anzuregen. Begünstigt durch die schnell vorangehenden Fortschritte der Maschinentechnik, Herstellung vollkommenerer Apparate etc. hat die Anwendung der Regnault'schen Methoden für die Lösung respiratorischer Aufgaben fortdauernd neue wichtige Resultate gefördert. Erhebliche Schwierigkeiten ergaben sich allein bei dem Versuche der Anwendung dieser Methoden zur Untersuchung der gasförmigen Einnahmen und Ausgaben grösserer Thiere. Es haben diese Schwierigkeiten zwar Regnault und Reiset[1]) nicht gehindert, in grösseren Apparaten die respiratorischen Einnahmen und Ausgaben von Schafen, Kälbern, Schweinen mit den gleichen Methoden zu untersuchen, aber diese Versuche sind später, soviel mir bekannt, nicht weiter geführt.

Ungefähr gleichzeitig mit dem Erscheinen der Arbeiten von Reiset wurde die Beschreibung eines Respirationsapparates nach ganz anderen Principien von Pettenkofer[2]) zugleich mit den Resultaten der ersten Versuche mit demselben an grossen Thieren und am Menschen veröffentlicht. Gleichfalls um diese Zeit begannen Untersuchungen nach wieder andern Principien über den respiratorischen Gasaustausch des Menschen von Speck[3]), die aber erst 1871 veröffentlicht sind.

---

[1]) Reiset, Annales de Chimie et de Physique (Ser. 3), T. 69, 1863.

[2]) Pettenkofer, Ann. d. Chem. u. Pharm., Supplem.-Bd. 2, S. 1, 1862—63.

[3]) C. Speck, Untersuchungen über den Sauerstoffverbrauch und CO_2-Ausathmung des Menschen. Schriften zur Beförderung der gesammten Naturwissenschaften zu Marburg, Bd. 10, 1871.

Der Apparat von Pettenkofer und die Ergebnisse der mit demselben sogleich unternommenen Versuche am Menschen erweckten grosse Hoffnungen. Sehr befriedigt durch die vortreffliche Ventilation in diesem Apparate, welche der Versuchsperson stets reichlich frische Luft zuführte, übersah man die sehr bedeutenden Mängel dieses Verfahrens und erkannte nicht sogleich, dass mit der Grösse des Luftwechsels die Ungenauigkeit der Resultate der Kohlensäurebestimmungen in mindestens gleichem Grade wachsen musste, die Sauerstoffaufnahme aber überhaupt nicht bestimmt werden konnte.

Dem Regnault'schen Verfahren wurde vorgeworfen, dass die Thiere in ihren Behältern während der Versuche eine ganz unreine Luft athmeten, die sie krank mache, ferner, dass solche complicirte Apparate gar nicht luftdicht hergestellt werden könnten, dass endlich die in den einzelnen Versuchen meist gefundene Ausscheidung von etwas gasförmigem Stickstoff durch Undichtheiten des Apparates u. dergl. bewirkt werde; Stoffwechselversuche hätten die Gleichheit der Stickstoffmenge in der vom Thiere aufgenommenen Nahrung mit der Quantität des Stickstoffs in den Ausscheidungen sicher ergeben. In dieser letzten Hinsicht waren die damals aufgeführten Stickstoffbestimmungen in Nahrung und Ausscheidung nicht so genau, als sie geschildert wurden, aber die Behauptung, dass eine Bildung freien Stickstoffs beim Stoffwechsel der Thiere nicht statt habe, ist insoweit richtig, dass bei möglichst genauer Beachtung aller Fehlerquellen auch bei Versuchen mit dem Regnault'schen Apparate irgend wesentliche Mengen von gasförmigem Stickstoff vom Thier weder ausgeschieden noch aufgenommen werden, wie dies später von Leo und Pflüger[1]) erkannt ist. Ein Grund, an der vollkommenen Dichtheit der Apparate von Regnault zu zweifeln, liegt durchaus nicht vor. Der Luftdruck im Innern des Apparates war stets höher als der äussere Barometerstand, ein Eindringen von Stickstoff von aussen durch Undichtheiten war sonach unmöglich. Die wahrscheinliche Ursache der gefundenen Zunahme des Stickstoffvolumen im Athemraume des

[1]) H. Leo, Pflüger's Arch., Bd. 26, S. 218, 1881.

Thieres ist in der Absorption von Stickstoff aus der Atmosphäre in die Sperrflüssigkeit und Uebertragung eines Theils davon an den abgesperrten Sauerstoff zu suchen. Im Uebrigen ist leicht ersichtlich, dass zahlreiche Fehlerquellen die Bestimmung des Stickstoffvolumen schädigen können. Die von Regnault gefundenen Aenderungen des Stickstoffvolumen betragen meist 1—2 Vol.-Procent des vom Thier verbrauchten resp. in den Apparat eingeströmten Sauerstoffs.

Die Ansichten über die Giftigkeit der Luft in Räumen, in welchen Menschen oder Thiere längere Zeit geathmet haben, sind bis zur Jetztzeit manchem Wechsel unterworfen gewesen, auch jetzt noch nicht zu einer definitiven Klärung gelangt. Sehr gründlich und klar ist dieser Gegenstand behandelt in der Gratulationsschrift von Wolffhügel betitelt: «Zur Lehre vom Luftwechsel», Pettenkofer zum Doctorjubiläum gewidmet 1893, Seite 29—44. Hier ist auch die wichtige Literatur über die in Betracht kommenden Punkte eingehend aufgeführt. Schon vor längerer Zeit habe ich in Folge einer bestimmten Aufforderung hierzu mich experimental mit dieser Frage beschäftigt und bei meinen Bestimmungen Resultate erhalten, welche mit den von Hermans und J. Forster[1]) erhaltenen vollkommen übereinstimmen. Abgesehen von Versuchen mit Permanganat habe ich beim langsamen Durchleiten der verunreinigten Luft (20—50 Liter) durch Chlorcalciumrohr und Kalilauge mit etwas festem Kali im besonderen Röhrchen wie bei der Elementaranalyse dieselben Werthe für den Kohlensäuregehalt gefunden, mochte die Luft durch ein Stück Verbrennungsrohr mit Asbest gefüllt und zum schwachen Glühen erhitzt gegangen sein oder nicht, wenigstens lagen die Differenzen innerhalb der Fehlergrenzen. Ich halte es trotz der übereinstimmenden Versuchsresultate für wichtig genug, derartige Vergleiche noch möglichst genau und in zahlreichen Versuchen auszuführen.

Die von Pettenkofer bezeichneten Mängel des Apparates von Regnault sind thatsächlich zum Theil gar nicht

---

[1]) Hermans und Forster, Arch. f. Hygiene, Bd. 1, S. 1, 1883.

vorhanden, zum andern Theil, wie unten noch näher besprochen werden soll, recht wohl zu beseitigen.

Seit 1885 sind nun von Geppert und Zuntz und mehreren ihrer Schüler, in letzter Zeit besonders von Magnus-Levy[1]), sehr zahlreiche und vielseitige Untersuchungsreihen über den respiratorischen Gasaustausch ausgeführt nach einer gut ausgedachten und sorgfältig durchgeführten Methode, welche sich am Nächsten an das Verfahren von Speck anschliesst, auch das vortreffliche Speck'sche Doppelventil zur Scheidung der Expirationsluft von der Inspirationsluft verwendet. Die Nase der Versuchsperson ist durch Klemme geschlossen, an den Mund fügt sich luftdicht ein Mundstück, durch welches geathmet wird. Die Expirationsluft strömt durch eine Gasuhr, welche durch diese Luft gedreht wird und dieselbe misst; ein genau regulirter und bekannter kleiner Theil des Stromes der Expirationsluft wird zu Gasröhren geführt, welche senkrecht im Wasserbade stehen. Das Luftvolumen wird in diesen Röhren gemessen, dann nach Hempel's Methoden ihr Gehalt an Kohlensäure und an Sauerstoff schnell bestimmt.

Mag auch die Anfügung des Mundstückes am Munde völlig luftdicht, der Druck, unter welchem die Ventile sich öffnen und schliessen und der Druck, welcher zur Drehung der Gasuhr und der Transmission, die ihr angefügt ist (zur Regulirung des für die Analyse bestimmten Antheils vom Expirationsluftstroms), erfordert wird, noch so klein sein, das Athmen mit solchem complicirten Apparate ist kein freies Athmen; alle hier und da unvermeidlich eintretenden Aenderungen im Respirationstypus, wie Räuspern u. drgl., müssen fühlbare Widerstände überwinden, das Athmen durch Mundstück ermüdet an sich schon bald die Versuchsperson, und es wird wohl von keiner Seite bestritten werden, dass das Athmen durch diesen Apparat nur auf kurze Zeit ohne starke Ermüdung ertragen werden kann. Lediglich ganz zuverlässige und geübte Versuchspersonen können überhaupt für diese

---

1) Ad. Magnus Levy, Pflüger's Arch., Bd. 55, S. 1, 1893.

Untersuchungen verwendet werden. Längere Zeit fortgesetzte Versuche sind damit nicht ausführbar. Die Zweckmässigkeit dieses Apparates zur experimentalen Entscheidung mancher Fragen, welche die Expirationsluft betreffen, soll durchaus nicht bestritten werden, aber zur Untersuchung der Hauptfragen im Betreff der respiratorischen gasförmigen Aufnahmen und Ausscheidungen in grösseren Zeiträumen kann dies Verfahren mit dem Regnault'schen Apparate nicht concurriren, denn in dem letzteren ist die Versuchsperson nur eingeschlossen, im Uebrigen aber in allen ihren Thätigkeiten vom Apparate unabhängig, mag sie wachen oder schlafen, ruhig sitzen oder liegen, mechanische oder andere Arbeiten verrichten.

Einrichtungen des Respirationsapparates für Versuche an Menschen.

Der im Strassburger physiologisch-chemischen Institute aufgestellte Respirationsapparat, zu Versuchen am gesunden oder kranken Menschen bestimmt, ist zusammengesetzt aus einem passendgeformten, nach aussen allseitig luftdicht abschliessbaren Raum A (siehe die Abbildungen Taf. I u. II), in welchem die Versuchsperson verweilt. Durch 6—7 cm. weite Röhrenleitung jederseits oben am vordern und hintern Ende wird Luft abwechselnd aus dem Raume abgesogen in 4 grosse theils mit starker Aetzkalilauge gefüllte Flaschen, welche in einem Bewegungs- resp. Schaukelapparate B fest eingelegt, durch einen Wassermotor C in der Weise bewegt werden, dass die Kalilauge beim Aufsteigen der Flaschen der einen Seite durch die verbindenden Kautschukschläuche in die beiden Flaschen der andern Seite abfliesst und an ihrer Stelle Luft aus A ansaugt, während auf der andern Seite ein ebenso grosses Luftvolumen durch gleichweite Röhrenleitung nach A zurückgepresst wird und nahe am Boden in A wieder einströmt. Aus dem Gasometer D', welcher Sauerstoff enthält, geht durch enges Kupferrohr Sauerstoff durch eine mit Aetzkalilauge gefüllte Waschflasche, dann eine mit Wasser gefüllte Flasche zur Gasuhr und tritt dann in den Raum A ein. Der ganze nach aussen abgeschlossene

zusammenhängende Luftraum in A und B beträgt 4943 Liter, die Röhren und Kaliflaschen nehmen hiervon 108,5 Liter ein.

Der Aufenthaltsraum A für die Versuchsperson hat die Gestalt eines liegenden Cylinders mit nach aussen convex gewölbten Endflächen. Die Wandung besteht aus Dampfkesselblech und der ganze Behälter ist einem Dampfkessel ähnlich. Diese Form ist gewählt wegen ihrer Stabilität bei Druckänderung, der leichtern Herstellung und damit zugleich geringeren Kosten. Die Länge des Cylinders beträgt 2 m., der Durchmesser 1,66 m. In der Mitte der oberen Wölbung ist ein kreisrundes (20 cm. im Durchmesser) Fenster f von 1 cm. starken Spiegelglas angebracht, durch welches bei Nacht die darüber befindliche Gaslampe mit Milchglasschirm das Innere des Apparates gut erhellt, so dass man im Lehnstuhl sitzend ohne Anstrengung lesen kann. Ein zweites kreisrundes Fenster f (29,5 cm. im Durchmesser) befindet sich an der convexen Basis des Cylinders nach dem Fenster des Zimmers hin, sodass bei Tageslicht das Innere gut beleuchtet ist. Ein drittes kreisrundes Fenster (21 cm. Durchmesser) ist in der an der gegenüberliegenden Basis des Cylinders oben an der Thür T angebracht. Der Fussboden wird von gitterförmig durchbrochenen eisernen Platten gebildet, unter denen an beiden Enden die Röhren münden, durch welche die von den Kaliflaschen kommende, von CO_2 befreite Luft zurückkehrt. Auf diesen Bodenplatten steht der in verschiedener Stellung des Fussbrettes und der Rücklehne von der Versuchsperson verstellbare Lehnsessel, oder an Stelle des Sessels nach Belieben ein Bett. An der einen Seite kann eine auf 2 Consoleträgern (Eisenstäben) gestützte eiserne Tischplatte in Charnieren an der Wand herabgelassen werden. An der gegenüberliegenden Wandung befinden sich 3 Oeffnungen von engen Röhren, durch deren erste die Communication mit dem Manometer M aussen auf dem Tische neben dem Cylinder hergestellt ist. Durch die mittlere Oeffnung tritt der Sauerstoff von der Gasuhr G ein und durch die dritte können in das mit Quecksilber gefüllte Gasometer p Luftproben von der Luft im Cylinder abgenommen werden. Ein kleines Röhrchen

ist oben in der Wölbung neben dem Fenster angebracht, um die Leitungen aufzunehmen für Telephon oder eine Edison-Glühlampe zur inneren Beleuchtung.

Die Versuchsperson betritt durch die 1,30 m. hohe und 0,5 m. breite Thüröffnung vor Beginn des Versuchs das Innere des Cylinders, nachdem 2 leere Flaschen von circa 6 Liter Inhalt nebst Stopfen und ein Blasebalg auf den Tisch im Innern gelegt sind. Die Thür wird sogleich geschlossen, indem ihr mit einem rings an derselben herumlaufendes, in Falz fest eingelegtes starkes Kautschukband fest gegen den abgerundeten Rand des Thürrahmens gepresst wird. Die Abbildung lässt deutlich die Form der in Charnieren beweglichen übergreifenden hakenförmig gekrümmten Klammern erkennen, an deren Ende starke Schrauben sich befinden, durch deren starkes gleichförmiges Anziehen mittelst der Hand an den ringförmigen Griffen ein festes Anpressen der Thür gegen den Rand des Thürrahmens erreicht wird. Die ganze Basis des Cylinders mit Thürrahmen, so wie die in lockeren Charnieren daran angesetzte Thür sind aus starkem Gusseisen angefertigt. Sechs Klammern mit Schrauben, je eine oben und unten und 2 auf jeder Seite, werden übergeklappt und schnell angezogen, es ist dies das Werk weniger Sekunden, und die Thür ist völlig luftdicht geschlossen. Oben an der innern Seite der Wölbung des Cylinders läuft ein Wasserleitungsrohr in 10facher Hin- und Herbiegung zu beiden Seiten des oberen Fensters an der ganzen Länge des Cylinders hin (im Ganzen 40 m. Rohrlänge bei 30 mm. Durchmesser der Röhren). Durch schwächeren oder stärkeren Wasserstrom kann der durch die Versuchsperson erwärmte Innenraum auf passender Temperatur erhalten werden. Die Temperatur wird controlirt nach dem Stande zweier Thermometer, deren Skala am Fenster, der Thür und dem Fenster der gegenüberliegenden Basis des Cylinders von aussen gut beobachtet werden kann.

Am Ende des Versuchs hat die Versuchsperson die beiden leeren Glasflaschen mittelst des Blasebalges zu ventiliren, so dass ihr Luftinhalt mit der Luft im übrigen Raume des

Cylinders gleiche Zusammensetzung hat, dann die Flaschen fest zuzustopfen, damit sie nach dem Versuche zur Pettenkofer'schen Bestimmung des CO_2-Gehaltes der Luft am Ende des Versuchs verwendet werden können.

Der Bewegungsapparat B, welcher im Keller unter dem Raume, in dem der cylinderische Apparat A zum Aufenthalt der Versuchsperson sich befindet, aufgestellt ist, wird in Bewegung erhalten durch den Wassermotor C (von Schmid in Zürich) mittelst der in der Abbildung gut erkennbaren Transmissionen, Kurbelstange und Balancier. Jederseits befinden sich in demselben 2 in einem eisernen Gestell b mit Kautschukausfütterung eingefügte Flaschen, jede von circa 15 Liter Inhalt. Jede Flasche der einen Seite ist mit einer der andern Seite durch 6—7 cm. weiten in der Wandung starken Kautschukschlauch verbunden, an dessen Mitte ein kupferner Hahn h zum Einfüllen und Ablassen der Kalilauge angebracht ist. Die oberen Oeffnungen dieser Flaschen sind luftdicht angefügt an gebogenen kupfernen Röhren, welche zu einem cylinderischen Mittelstück (in Tafel II in dicken Linien gezeichnet) der Rohrleitung führen, in dem sich auf Messingkreuz aufliegende, nach oben schlagende Ventile von Kautschukplatten befinden, von denen das eine oberhalb, das andere unterhalb der seitlichen Eintrittsöffnungen der Röhrenleitung zu den Flaschen liegt. Die von den Röhren an der obern Wölbung im Raume des Cylinders A, in welchem sich die Versuchsperson befindet, eingesaugte Luft wird durch das untere Ventil den Kaliflaschen einer Seite zugeführt, in welchen die Kalilauge abwärts zur andern Seite fliesst, während auf der andern Seite des Bewegungsapparates die von der zuströmenden Kalilauge ausgetriebene Luft durch das obere Ventil und die angefügte Röhrenleitung unter den durchbrochenen Platten des Fussbodens in den Raum der Versuchsperson A zurückfliesst. Diese Ventile functioniren tadellos und zeigen besonders an der Bewegung der Kalilauge in den Flaschen beim Auf- und Abgehn derselben, dass sie schwächster Luftpression folgend sich erheben und desshalb die Auf- und Abbewegung der Kalilauge nicht verändern.

Die Geschwindigkeit, mit welcher der Bewegungsapparat die Kaliflaschen abwechselnd der einen und der andern Seite hebt und senkt, wird regulirt durch den Wasserleitungshahn, durch dessen geringere oder weitere Oeffnung der Wassermotor zu geringerer oder grösserer Zahl der Umdrehungen seiner Kurbel in der Zeiteinheit gebracht wird. Hinter der Riemenscheibe K (Tafel II) am Bewegungsapparat B befindet sich an derselben Axe die Kurbel, an der die Triebstange angefügt ist, welche die Verbindung mit dem Balancier vermittelt. Diese Anfügung ist in einem Schlitten des Kurbelarmes stellbar befestigt, so dass der Radius des Kreises, welchen die Anfügungsstelle bei der Umdrehung der Kurbel beschreibt und damit die Hubhöhe, um welche dabei die Kaliflaschen gehoben und gesenkt werden, in mässigen Grenzen vermindert und gesteigert werden kann. Die Hubhöhe für die Flaschen war gewöhnlich zu 27 cm. bemessen und 4 bis 12 Kurbelumdrehungen in der Minute, je nach der grösseren oder geringeren Füllung der Kaliflaschen mit Lauge eingestellt. Die bei dem Hinabgehen der Flaschen in sie einströmende Kalilauge bewegt sich in Wellen und Wirbeln, welche sehr günstig für die Absorption der Kohlensäure insofern wirken, als an die Berührungsfläche der Flüssigkeit immer neue Flüssigkeitstheilchen gelangen, in gleicher Weise stets neue Lufttheile in Berührung mit der Flüssigkeit treten und die Berührungsfläche selbst bedeutend vergrössert wird. Bei zu starker Anfüllung der Flaschen und zu schnellem Gang könnte sich Spritzen der Kalilauge einstellen; es würde dies insofern Gefahr bringen, als Lauge an die Kautschukplatten der Ventile spritzen und deren Function stören könnte. Bei nicht zu schnellem Gange können 26 Liter Kalilauge eingefüllt sein; eine Füllung mit 20 Liter hat sich als die zweckmässigste erwiesen. Bei dieser Füllung und 4maliger Umdrehung der Kurbel in der Minute beträgt die Ventilation in der Stunde 4,8 cbm., indem 10 Liter der Lauge in den verbindenden Kautschukschläuchen nur hin und her fliessen und bei der Ventilation unbetheiligt bleiben. Es kann jedoch die Ventilation noch wesentlich höher gesteigert werden. Auch die Anbringung noch eines dritten

und vielleicht auch vierten Kaliflaschenpaares nebst unten verbindenden weiten Schläuchen würde nur eine wenig kostspielige Aenderung erfordern und bei der Steigerung der Leistungsfähigkeit auf das $1^1/_2$—2fache eine sehr wesentlich grössere Leistung des Motors nicht erheischen. Die Bewegung des Motors C, der Bewegungsmaschine B und der Kalilauge in den Flaschen ist so vollkommen geräuschlos, dass man nur leises Rauschen des vom Motor in die Abzugsröhre fliessenden Wassers vernimmt, wenn man in der Nähe der Maschinen steht. Die Stille ist bei den Versuchen eine so allgemeine, dass die Versuchspersonen leicht einschlafen und wenn nicht öfter ermuntert, lange Zeit fest schlafen können. Die Strömung des Wassers aus der Röhrenleitung im Cylinder in das Abflussrohr bringt etwas Geräusch hervor, das aber ziemlich gleichmässig und nicht störend ist.

Da der Bedarf an Sauerstoff in Versuchen an Menschen ein recht bedeutender sein kann, ist dem Respirationsapparat ein kupfernes Gasometer angefügt von circa $^1/_2$ cbm. Gasraum in der Glocke. Um den Uebertritt von Stickstoff aus der äusseren Luft durch das Sperrwasser in das Sauerstoffgas in der Gasometerglocke möglichst zu beschränken, sind sowohl die Gasometerglocke als auch der Behälter des Sperrwassers, in welches die Glocke eintaucht, mit einem concentrischen Cylindermantel umgeben, welcher einen Raum einschliesst, der luftdicht vom inneren Raum geschieden ist. Wenn die innere Gasometerglocke mit ihrer das Gas einschliessenden Wandung in das Sperrwasser des innern Sperrwasserbehälters hinabgelassen wird, soll die concentrische äussere Wandung des äussern circulären Raumes in der Glocke zwischen der inneren und äusseren Wandung des circulären Sperrwasserbehälters hinabsinken. Dieses Hinabsinken wird nur möglich, wenn das im circulären äusseren Raume enthaltene Gas entweichen kann. Um dies zu ermöglichen ist ein zweites kleineres Gasometer neben das beschriebene grosse gestellt und oben durch einen Hahn und Kautschukschlauch mit einem Hahn oben an den circulären Raum am grossen Gasometer D′ in Verbindung gesetzt.

Die Gaszu- und Abflussröhren laufen horizontal am Boden hin und steigen durch den Boden der Sperrwasserbehälter D und E im Centrum desselben senkrecht bis über die Oberfläche des Wassers empor. Die Gasometerglocken sind äquilibrirt durch Gewichte, welche an den Seiten der Wölbung der Gasometer mittelst zweier Seile befestigt sind, die über Rollen an Gestellen gehen und aussen die angehängten Gewichte tragen. Sind nun die Gasometer beide ganz im Sperrwasser hinabgelassen, so wird in das kleinere Gasometer E′ (bei geschlossenem Hahn oben an der Wölbung der Glocke) durch die Röhrenleitung am Boden Sauerstoff zunächst allein eingeleitet, während die Röhrenleitung nach D′ noch durch Hahn abgeschlossen ist. Nachdem E′ mit Sauerstoff gefüllt ist, wird durch Schliessung des Zuleitungshahns in der untern Röhrenleitung nach E′ und Oeffnung des Hahns nach D′ der Sauerstoffstrom in die innere Glocke von D′ eingeleitet, während die Hähne an der oberen Wölbung beider Gasometer, welche mit Kautschukschlauch verbunden sind, geöffnet werden. Wird dann das grosse Gasometer allmälig durch das eingeleitete Sauerstoffgas zum Steigen gebracht, so strömt Sauerstoffgas aus E′ in den äusseren circulären Raum der Gasometerglocke D′ so lange bis schliesslich der innere Raum von D′ genügend gefüllt und der Hahn am Zuleitungsrohr unten geschlossen ist. Wird dann in den Versuchen aus dem inneren Raum der Gasometerglocke D′ Sauerstoff verbraucht, indem derselbe durch das enge Kupferrohr zu den Waschflaschen und der Gasuhr G geleitet wird, so strömt entsprechend der Senkung der Gasometerglocke D′ durch die oberen Hahne an D′ und E′ und den verbindenden Kautschukschlauch aus dem circulären Raum von D′ das Sauerstoffgas wieder nach E′ zurück. Ist nun die Gasometerglocke im inneren und im circulären Raume mit Sauerstoff gefüllt, so kann Stickstoff aus der atm. Luft durch Diffusion im Sperrwasser zunächst nur zu dem Sauerstoff im circulären Raum gelangen, von da durch das innere Sperrwasser erst zum Sauerstoff im inneren Raume von D′. Die Stickstofftension im circulären Raume von D′ wird auf lange Zeit eine

sehr geringe bleiben, und da man sich die Geschwindigkeit der Diffusion des Stickstoffs durch Wasser (die in allen Fällen eine langsame ist) doch als abhängig von der Tension des Gases vorstellen muss, wird entsprechend diesem geringen Druck das Ueberströmen aus dem circulären Raume durch das innere Sperrwasser in den inneren Raum ausserordentlich langsam vor sich gehen.

Da jetzt aus der Fabrik von Elkan in Berlin bei 100 Atm. comprimirtes, ziemlich reines Sauerstoffgas in Bomben bezogen und vorräthig erhalten werden kann, so wird man es wohl vortheilhafter finden, ein kleines einfaches Kupfergasometer zu benutzen, dessen Füllung aus der Bombe während eines längeren Zeit fortgesetzten Versuches mehrmals geschehen kann. Die directe Anfügung der Bombe an das Sauerstoffzuleitungsrohr zur Gasuhr mit regulirendem Ventil von grosser Empfindlichkeit (und für mässigen Ueberdruck des Sauerstoffs über den Barometerstand eingestellt) wird sich gleichfalls einrichten lassen, aber freilich nicht leicht mit der Empfindlichkeit einer 80 cm. im Durchmesser haltenden Gasometerglocke bei bestimmter Belastung.

Die Ausführung eines Versuchs mit dem geschilderten Apparate gestaltet sich nun in ungefähr folgender Weise.

Zunächst sind einige Vorarbeiten nöthig:

1. Der Apparat A ist gut zu ventiliren;
2. der CO_2-Gehalt der bereit gehaltenen Kalilauge von 1,27 spec. Gewicht ist durch 2 Analysen zu bestimmen, ebenso
3. der CO_2-Gehalt der Luft im offenen Raume A nach Pettenkofer's Titrirungsmethode;
4. es werden 20 Liter der Kalilauge in die Flaschen des Bewegungsapparates B eingefüllt;
5. die 2 Flaschen, jede ungefähr zu 6 Liter Inhaltsraum, die Stopfen dazu und Blasebalg werden auf den Tisch in A gestellt;

6. Barometerstand und Stand der Thermometer an den Fenstern werden notirt;
7. das mit Quecksilber gefüllte kleine Gasometer p, von ungefähr 500 cbcm. Inhaltsraum wird an das Röhrchen mit Hahn am Apparat A angefügt;
8. die kurz vorher gewogene Versuchsperson betritt den Raum A und sogleich wird die Thür luftdicht geschlossen.

Mit Beginn des Versuchs:

Die Zeit des Beginns des Versuches wird notirt, ebenso der Stand der Zeiger der Gasuhr.

Der Bewegungsapparat wird durch vorsichtige Oeffnung des Zuströmungshahns der Wasserleitung zum Wassermotor C in Bewegung gesetzt und die Bewegung langsam zur passenden Geschwindigkeit gesteigert. Der Hahn zwischen Sauerstoffgasometer D′ und engem Kupferrohr wird geöffnet ebenso oben vorsichtig der Hahn, durch welchen das Sauerstoffgas aus diesem Kupferrohr zur Kaliflasche, Wasserwaschflasche und Gasuhr gelangt. Hierzu wird ein passender Theil der Gegengewichte an der Gasometerglocke D′ abgenommen, so dass das Sauerstoffgas unter etwas gesteigerten Druck gelangt.

Während der ganzen Dauer des Versuchs hat der Experimentator, welcher den Versuch leitet, oder sein zeitweiser Stellvertreter den Stand des Wassermanometers, den Gang der Gasuhr und den Stand der Thermometer an den Fenstern des Raumes A zu beobachten und von Zeit zu Zeit zu notiren, bei Steigerung der Temperatur in A und des Manometerniveau im äusseren Schenkel durch vorsichtigen Gebrauch der Kühlung mittelst der Wasserleitung die Temperatur und hiermit den inneren Ueberdruck zu ermässigen, um die Sauerstoffzufuhr zu steigern.

Ein Assistent hat während der Versuchsdauer im Keller den Gang des Motors und des Bewegungsapparates zu beaufsichtigen, beim Sinken der Sauerstoffgasometerglocke weiterhin die Gegengewichte zu verringern. Der Gang dieser Apparate B, C, D′ und E′ geht zwar nach einmal hergestellter Regulirung so regelmässig von Statten, dass eigentlich diese

Beaufsichtigung unnöthig erscheinen kann. Sie ist eigentlich nur deshalb erforderlich, weil, wenn Störungen eintreten sollten und das Abbrechen des Versuchs erforderlich sein würde, zum schnellen Abschluss und zur Ausführung der jetzt nöthigen Arbeiten die Hülfe eines Assistenten sehr nöthig ist.

Soll der Versuch abgebrochen werden, so hat die Versuchsperson die 2 Flaschen zur CO_2-Bestimmung der Innenluft mit dem Blasebalg zu ventiliren und dann mit Stopfen fest zu schliessen. Das Quecksilbergasometer p ist mit Luft aus dem Inneren von A zu füllen. Der Bewegungsapparat wird durch Schliessen des Hahns der Wasserleitung sofort zum Stillstand gebracht. Der Hahn der Sauerstoffzuleitung vor der Kaliwaschflasche wird abgeschlossen, der Stand der Gasuhr, der Stand des Manometer, ebenso der Thermometer und das Barometer notirt, ebenso die Tageszeit. Die Thür von A wird geöffnet und die Versuchsperson wird gewogen.

Eine Reihe weiterer Arbeiten folgt, durch welche 1. das Volumen der abgelassenen Kalilauge aus den Flaschen des Bewegungsapparates und ihr CO_2-Gehalt bestimmt wird, 2. durch Pettenkofer'sche Titrirung der CO_2-Gehalt in den zwei 6-Literproben der Innenluft am Ende des Versuchs ermittelt und endlich durch Gasanalyse nach Bunsen's Methoden der Sauerstoffgehalt der Innenluft (Proben aus dem Quecksilbergasometer) bestimmt wird.

In den sich hier anschliessenden Untersuchungen von Herrn Dr. Laves und Herrn Dr. Weintraud sind die ersten vollständigen Versuche über die Respiration des Menschen mit diesem Apparate geschildert. Sie liefern den Beweis, dass der respiratorische Stoffwechsel des Menschen mit diesem Apparate recht wohl untersucht werden kann, indem die Versuchspersonen nicht allein einige Stunden, sondern selbst 24 Stunden ohne Unterbrechung im Apparate zubringen und dann denselben gesund und ohne irgend welche Beschwerde gefühlt zu haben verlassen. Sie würden sich zur Wiederholung wohl nicht freiwillig entschlossen haben, wenn irgend welche erhebliche Uebelstände von ihnen empfunden worden wären.

Wie oben bereits gesagt ist, würde es sich recht wohl ausführen lassen, die etwaigen organischen in der Innenluft des Apparates sich ansammelnden Stoffe zu entfernen und zwar am Einfachsten durch Einschalten von genügend weiten Glasrohrstücken von ungefähr 25 cm. Länge und 7 cm. Durchmesser in die Röhrenstränge, durch welche die Luft oben vom Apparat A abgesaugt und zu den Kaliflaschen geleitet wird, indem in diesen Glasrohrstücken Spiralen von Platindraht zeitweilig im mässigen Glühen erhalten und hierdurch die organischen Stoffe in der Luft verbrannt werden. Es würden bei diesem Verfahren auch Wasserstoff und Methan verbrannt und das Methan erschiene als Kohlensäure in den Resultaten. Es stand uns eine Dynamomaschine nicht zur Verfügung, aber es schien auch wichtig, dass zunächst die völlige Unschädlichkeit der Versuche ohne diese Verbrennung constatirt würde.

Die Procent-Gehalte an Sauerstoff sind so hoch am Ende der Versuche geblieben, dass in dieser Hinsicht keine Einwendung möglich ist; die Procent-Gehalte an CO_2 sind allerdings ziemlich angestiegen, können aber einen den Stoffwechsel qualitativ oder quantitativ schädigenden Einfluss nicht geübt haben.

Respirationsversuche am gesunden Menschen.

Von

Ernst Laves.

(Der Redaction zugegangen am 6. Juni 1894.)

Mit dem in voraufgehender Abhandlung beschriebenen Apparate wurden auf Anregung von Herrn Prof. F. Hoppe-Seyler Respirationsversuche ausgeführt, wobei man die oben gegebene Vorschrift befolgte.

Als Versuchsobject diente ein gesunder Mann von circa 30 Jahren, welcher ohne Beschwerde 8 bis 24 Stunden in dem Raume A des Apparates verweilte.

Bei jedem Versuche wurden die erforderlichen Beobachtungen gemacht, und durch Analysen folgende Daten ermittelt:

1. Gehalt der Luft im Apparate an O_2 und CO_2 zu Beginn und am Ende.
2. Gehalt der Kalilauge an CO_2 zu Beginn und am Ende.
3. Gehalt der Gasometerluft an O_2.

Der Sauerstoffgehalt der Luft bei Beginn der Versuche wurde zu 20,93 % O_2 angenommen, vermindert um den durch Analyse ermittelten procentischen Kohlensäuregehalt, bezogen auf das Sauerstoffvolum, und nach der Formel berechnet:

$$4840 \left(\frac{20,93}{100} - a \, . \, \frac{20,93}{100} \right) = \text{Liter } O_2.$$

Hierbei ist a = Procentgehalt der Luft an Kohlensäure. 4840 ist, in Litern ausgedrückt, der Luftraum des Apparates nach Einbringung der Kalilauge und der Versuchsperson. Die Gasvolume sind auf trockenem Zustand 0° und auf 760 mm. Hg-Druck berechnet. Die Spannung des Wasserdampfes in der

Luft wurde nicht gemessen, sondern je nach Barometerstand und Aussentemperatur $^1/_2$ bis $^3/_4$ Sättigung der Luft mit Wasserdampf angenommen.

Die Luft im Raume A des Apparates ist wenige Stunden nach Beginn des Versuches mit Wasserdampf gesättigt, wie einige frühere Versuche des Prof. F. Hoppe-Seyler ergeben haben.

Zur Sauerstoffbestimmung in der Luft des Apparates und der Gasometer wurden stets 2 Bestimmungen durch Absorption mit Natronlauge und Pyrogallussäure, sowie 2 durch Verpuffung mit Wasserstoff durch den electrischen Funken ausgeführt. Um bei der sauerstoffreichen Gasometerluft die Explosion zu mildern, wurde ein grosser Ueberschuss an Wasserstoff zugeleitet; die Luft des Apparates musste zuvor mit Natronlauge von Kohlensäure befreit und ausser mit Wasserstoff mit electrolytisch dargestelltem Knallgase gemischt werden, bevor die Explosion eingeleitet wurde.

Die Volumverminderung durch Absorption zeigt die Summe vorhandenen Sauerstoffs plus Kohlensäure an, und ist letztere jedesmal in Abzug zu bringen.

Das Mittel aus vier Bestimmungen einer Luftprobe wurde den Berechnungen zu Grunde gelegt, zu welchen Landolt's Tafeln benutzt wurden. Die Gasanalysen selbst wurden nach Bunsen's Vorschrift ausgeführt. Da der Sauerstoffgehalt der Gasometerluft sich bei längerem Aufbewahren selbst in dem doppeltwandigen Gasometer änderte, musste sie vor den einzelnen Versuchen analysirt werden. Das verwendete Sauerstoffgas war von Dr. Th. Elkan, Berlin, in Stahlcylindern bezogen, enthaltend 1000 l O_2, und enthielt 95—97 % reinen Sauerstoffs und 3—5 % Stickstoff. Nach 4monatlichem Stehen im doppeltwandigen Gasometer über Wasser sank der Sauerstoffgehalt auf 91—92 %.

Der Kohlensäuregehalt der Luft des Apparates wurde, wie oben erwähnt, nach Pettenkofer's Methode bestimmt.

Die Menge der Kohlensäure in der Kalilauge ermittelt man durch Wägung der vermittelst Schwefelsäure ausge-

triebenen und im Liebig'schen Kaliapparate aufgefangenen Kohlensäure.

Der Apparat besteht aus:

1. Kaliwaschflasche zum Reinigen der durchzuleitenden Luft.
2. Rundkolben von ca. 500 cbcm. Inhalt mit dreifach durchbohrtem Gummistopfen.
3. Einem in kaltes Wasser eintauchendem Kugelapparate zum Condensiren überdestillirenden Wassers.
4. 2 Chlorcalciumröhren.
5. 2 Liebig'schen Kaliapparaten, verbunden mit Natriumhydroxydrohr.
6. Chlorcalciumthurm und Aspirator.

Durch die Bohrungen des Stopfens gehen 3 Glasröhren, eine derselben, in die Flüssigkeit des Kolbens reichend, communicirt mit KOH-Waschflasche, die 2. Glasröhre mit der in obiger Reihenfolge zusammengesetzten Apparatenkette; an die 3. Röhre ist eine Bürette mit Glashahn angeschmolzen. — Der Kolben wird mit 200 cbcm. Schwefelsäure von 20% beschickt; in die Bürette werden 50 cbcm. einer Mischung aus gleichen Theilen der zu untersuchenden Kalilauge und ausgekochten Wassers eingefüllt. Nachdem man obige Apparatenkette mit dem geschlossenen Aspirator (ein mit Wasser gefüllter Gasometer) verbunden hat, erhitzt man die verdünnte Schwefelsäure im Kolben zum Sieden, ohne den Kugelapparat mit dem Rundkolben zu verbinden. Hierauf wird die Leitung nach der Kaliflasche abgeschlossen, diejenige nach dem Kugelapparate aber hergestellt und durch Oeffnen des Büretten-Hahnes langsam Kalilauge in die Schwefelsäure gelassen, wobei man die Flamme unter dem Kolben wegnimmt. Ist der Gasdruck der freigewordenen Kohlensäure annährend gleich dem äusseren Luftdruck, so beginnt man, mit dem Aspirator langsam zu saugen, doch so, dass in dem Kolben stets ein luftverdünnter Raum ist. Wenn die 50 cbcm. KOH in die Schwefelsäure eingetropft sind, spült man die Bürette mit etwas Wasser nach und erhitzt zugleich die Schwefelsäure zum Sieden. Dann

löscht man die Flamme aus und leitet kohlensäurefreie Luft in den Kolben, derart, dass ein gleichmässiger langsamer Gasstrom durch die Apparatenkette gesogen wird. Nach weiteren 20 Minuten nimmt man den Apparat auseinander, lässt die Kaliapparate und das Natronrohr erkalten und bestimmt deren Gewichtszunahme. Dieselbe multiplicirt mit 4 gibt den Procentgehalt der Kalilauge an Kohlensäure an. Es wurden jedesmal 2 Parallelbestimmungen gemacht, die unter einander gut übereinstimmten, und hieraus das Mittel genommen. Bei einiger Uebung und Vorsicht gibt die Methode recht gute Resultate.

In kurzem Abriss sei an einem Beispiele die Berechnung der Respirationsversuche auf Grund der beobachteten und der Analysenwerthe erläutert.

Zeit: 2. Dec. 1893 von 1 Uhr 40 Min. Mittags bis 11 Uhr 45 Min. Abends. Dauer 10 Stunden 5 Minuten.

Gewicht der Person: Zu Beginn: 66,5 Kgr.
Am Schluss: 66,0 Kgr.

Temperatur im Apparate: Zu Beginn: + 16,8° C.
Am Schluss: + 20,3° C.

Luftdruck: Zu Beginn: 758,6 bei + 9,6° = 757,4 mm. bei 0°.
Am Schluss: 759,0 bei + 9,0° = 757,8 mm. bei 0°.
(Im Apparate waren am Schluss 2 mm. Hg negativer Druck.)

Kalilauge: Eingefüllt: 18,6 l.
Abgelassen: 18,77 l.

Menge des zugeleiteten Sauerstoffgases: 105 l.

Kohlensäurebestimmungen:

I. In der Kalilauge gefunden:

Am Schluss: 7,086 % CO_2. In 18,77 l: 1330,0 gr. CO_2.
Zu Beginn: 5,916 % CO_2. In 18,6 l: 1100,0 gr, CO_2.

Zunahme: 230,0 gr. CO_2 = 117,05

II. In der Luft des Kessels nach Pettenkofer:

Am Schluss: 6,22 cbcm. im Liter. In 4840 l: 30,105 l.
Zu Beginn: 0,625 cbcm. im Liter. In 4840 l: 3,025 l.

Zunahme: 27,02 l.

Gesammtproduction an Kohlensäure: 144,07 l in 10 St. 5 Min.
343 l CO_2 in 24 Stunden.

Sauerstoffbestimmungen:

I. In der Luft des Kessels:

Zu Beginn: $$\frac{4840\,(757{,}4-9{,}5)\left(20{,}93-\frac{20{,}93\,.\,0{,}0625}{100}\right)}{760\,(1+0{,}003665\,.\,16{,}8)\,100}=938{,}5\text{ l.}$$

Am Schluss: $$\frac{4840\,(755{,}8-17{,}7)\,.\,19{,}75\,^{1)}}{760\,(1+0{,}003665\,.\,20{,}3)\,100}=864{,}1\text{ l.}$$

Abnahme an O_2: 74,4 l.

II. Im zugeleiteten Sauerstoffgase:

$$\frac{105{,}0\,.\,91{,}4\,^{1)}\,(756{,}8-14{,}0)}{760\,(1+0{,}003665\,.\,16{,}8)\,100}=88{,}4\text{ l.}$$

Gesammtverbrauch an Sauerstoff: 162,8 l.
» in 24 Stunden: 387 l.

Bei einem mittleren Körpergewicht von 66,25 Kgr. ergeben sich, pro Kilogramm Körpergewicht und Minute berechnet, die Werthe:

$$CO_2:\ \frac{144{,}07\,.\,1000}{605\,^{2)}\,66{,}25}=3{,}595\text{ cbcm. }CO_2.$$

$$O_2:\ \frac{162{,}8\,.\,1000}{605\,.\,66{,}25}=4{,}052\text{ cbcm. }O_2.$$

$$\text{Respiratorischer Quotient: }\frac{343}{387}=\frac{3{,}595}{4{,}062}=0{,}885.$$

Es ist nach der Beschreibung des Apparates und der Versuchsanordnung einleuchtend, dass die mit demselben gewonnenen Resultate bei exacter Ausführung der Analysen durchaus sichere sein müssen. Die Versuche können ohne jede Gefahr für die Versuchsperson auf 24 Stunden und länger ausgedehnt werden.

Die Ergebnisse der Versuche am normalen Menschen bei gemischter Kost sind nachfolgend tabellarisch zusammengestellt; in Versuch 2 und 3 wurde die Brotration im Verhältniss zur Fleischration erhöht.

Physiol.-chem. Institut Strassburg i. E.

---

[1]) Die Mittelwerthe der Sauerstoffbestimmungen der Gasometerluft.
[2]) Dauer des Versuches in Minuten.

1. Versuch am normalen Menschen.

	Zeit und Dauer.	Gewicht der Versuchsperson.	Temperatur im Apparate.	Barometerstand (corrigirt).	CO_2-Bestimmung. Menge der Kalilauge und Procentgehalt an CO_2.	CO_2-Bestimmung. Menge der CO_2 in der Kalilauge.	CO_2-Bestimmung. CO_2-Gehalt der Luft des Apparates. in 1 l.	CO_2-Bestimmung. CO_2-Gehalt der Luft des Apparates. in 4840 l.	O_2-Bestimmung. O_2-Gehalt der Luft des Apparates. Reduc. Luftvolum mit % O_2.	O_2-Bestimmung. O_2-Gehalt der Luft des Apparates. Menge des O_2.	O_2-Bestimmung. Menge des zugeleiteten O_2.
Zu Beginn des Versuches:	20. XI. 93 9.0 Uhr Morgens.	67,5 Kgr.	14,9° C.	731,5 mm.	18,23 l. mit 5,5604% CO_2.	1013,7 gr.	1,8333 cbcm.	9,14	4360 l. mit 20,9% O_2.	904,7 l.	125,48 l. mit 88,72% O_2 $= \frac{125,48 . 88,72 (732,6-14,0)}{100 . 760 (1 + 0,003665 . 17)} =$
Am Schluss des Versuches:	20. XI. 93 5.0 Uhr Nachm.	67,3 Kgr.	16,6° C.	733,2 mm.	18,31 l. mit 6,382% CO_2.	1168,5 gr.	11,0 cbcm.	53,24	4314 l. mit 20% O_2.	862,7 l.	
Dauer: 8 Stunden.					Zunahme an 154,8 gr. CO_2: = 79,05 l. + 44,1 l. = 123,15 l. CO_2.				Verbrauch an O_2: 42,0 + 97,1 l. O_2. = 139,1 l. O_2.		

	In 24 Stunden.	Pro Kgr. und Minute.
CO_2-Production . . .	369,45 l.	3,806 cbcm.
O_2-Verbrauch	419,3 l.	4,322 cbcm.

Respiratorischer Quotient: 0,885.

2. Versuch am normalen Menschen.

	Zeit und Dauer.	Gewicht der Versuchsperson.	Temperatur im Apparate.	Barometerstand (corrigirt).	CO_2-Bestimmung. Menge der Kalilauge und Procentgehalt an CO_2.	CO_2-Bestimmung. Menge der CO_2 in der Kalilauge.	CO_2-Bestimmung. CO_2-Gehalt der Luft des Apparates. in 1 l.	CO_2-Bestimmung. CO_2-Gehalt der Luft des Apparates. in 4840 l.	O_2-Bestimmung. O_2-Gehalt der Luft des Apparates. Reduc. Luftvolum mit % O_2.	O_2-Bestimmung. O_2-Gehalt der Luft des Apparates. Menge des O_2.	O_2-Bestimmung. Menge des zugeleiteten O_2.
Zu Beginn des Versuches:	22. XI. 93 3.9 Uhr Nachm.	67,5 Kgr.	17,5° C.	754,8 mm.	19,16 l. mit 4,8286 % CO_2.	925,0 gr.	0,5104 cbcm.	2,472	4457,5 l. mit 20,92 % O_2.	931 l.	122,26 l. mit 88,72 % O_2 $= \frac{122{,}26 \cdot 88{,}72\,(752{,}7 - 14{,}0)}{100 \cdot 760\,(1 + 0{,}003665 \cdot 17)} =$
Am Schluss des Versuches:	22. XI. 93 11.12 Uhr Nachts.	66,9 Kgr.	19,8° C.	750,2 mm.	19,38 l. mit 5,731 % CO_2.	1100,7 gr.	9,3 cbcm.	45,012	4353 l. mit 20,33 % O_2.	883 l.	
Dauer 6 Stunden 3 Min.					Zunahme an 185,5 gr. CO_2: = 94,16 l. + 42,54 l. = 136,7 l. CO_2.				Verbrauch an O_2: 48 l. + 100,6 l. O_2. = 148,6 l. O_2.		

	In 24 Stunden.	Pro Kgr. und Minute.
CO_2-Production	405,0 l.	4,173 cbcm.
O_2-Verbrauch	445,0 l.	4,585 cbcm.

Respiratorischer Quotient: 0,91.

3. Versuch am normalen Menschen.

	Zeit und Dauer.	Gewicht der Versuchsperson.	Temperatur im Apparate.	Barometerstand (corrigirt).	CO_2-Bestimmung. Menge der Kalilauge und Procentgehalt an CO_2.	CO_2-Bestimmung. Menge der CO_2 in der Kalilauge.	CO_2-Gehalt der Luft des Apparates. in 1 l.	CO_2-Gehalt der Luft des Apparates. in 4840 l.	O_2-Bestimmung. O_2-Gehalt der Luft des Apparates. Reduc. Luftvolum mit % O_2.	O_2-Bestimmung. O_2-Gehalt der Luft des Apparates. Menge des O_2.	O_2-Bestimmung. Menge des zugeleiteten O_2.
Zu Beginn des Versuches.	25. XI. 93 9,5 Uhr Abends.	67 Kgr.	18,9° C.	751,6 mm.	17,51 l. mit 5,3704 % CO_2.	940,8 gr.	1,75 cbcm.	8,47 l.	4406 l. mit 20,90 % O_2.	921 l.	132,18 l. mit 91,4 % O_2 $= \frac{132,18 . 91,4 . (749,8 - 14,0)}{100 . 730 (1 + 0,003665 . 17)} =$
Am Schluss des Versuches:	26. XI. 93 7,10 Uhr Morgens.	66,25 Kgr.	17,7° C.	747,5 mm.	17,71 l. mit 6,51 % CO_2.	1151,6 gr.	7,23 cbcm.	35,0 l.	4383 l. mit 20,1 % O_2.	881,3 l.	
Dauer 10 Stunden 5 Min.					Zunahme an 210,8 gr. CO_2: = 107,27 l. + 26,53 l. = 133,8 l. CO_2.				Verbrauch an O_2: 39,7 l. + 110,3 l. O_2. = 150 l. O_2.		

	In 24 Stunden.	Pro Kgr. und Minute.
CO_2-Production . . .	318,3 l.	3,32 cbcm.
O_2-Verbrauch	357,2 l.	3,725 cbcm.

Respiratorischer Quotient: 0,891.

4. Versuch am normalen Menschen.

	Zeit und Dauer.	Gewicht der Versuchsperson.	Temperatur im Apparate.	Barometerstand (corrigirt).	CO_2-Bestimmung.				O_2-Bestimmung.		
					Menge der Kalilauge und Procentgehalt an CO_2.	Menge der CO_2 in der Kalilauge.	CO_2-Gehalt der Luft des Apparates.		O_2-Gehalt der Luft des Apparates.		Menge des zugeleiteten O_2.
							in 1 l.	in 4840 l.	Reduc. Luftvolum mit % O_2.	Menge des O_2.	
Zu Beginn des Versuches:	29. XI. 93 9 Uhr Abends.	66,75 Kgr.	19,1° C.	758,8 mm.	18,2 l. mit 5,36 % CO_2.	975,3 gr.	2,208 cbcm.	10,688	4450 l. mit 20,89% O_2.	930 l.	103,26 l. mit 92,4 % O_2 $= \frac{103{,}26 . 92{,}4\,(755{,}8-13{,}8)}{100 . 760\,(1+0{,}003665 . 17)} =$
Am Schluss des Versuches:	30. XI. 93 7,5 Uhr Morgens.	66,25 Kgr.	18,3° C.	752,8 mm.	18,43 l. mit 6,304% CO_2.	1162,0 gr.	8,49 cbcm.	41,1 l.	4400 l. mit 19,7% O_2.	867 l.	
Dauer 10 Stunden 5 Min.					Zunahme an 186,7 gr. CO_2: = 95,088 l. + 30,412 l. = 125,5 l. CO_2.				Verbrauch an O_2: 63,0 l. + 86,75 l. O_2. = 150,75 l. O_2.		

	In 24 Stunden.	Pro Kgr. und Minute.
CO_2-Production . . .	299 l.	3,117 cbcm.
O_2-Verbrauch	358,5 l.	3,75 cbcm.

Respiratorischer Quotient: 0,834.

5. Versuch am normalen Menschen.

	Zeit und Dauer.	Gewicht der Versuchsperson.	Temperatur im Apparate.	Barometerstand (corrigirt).	CO_2-Bestimmung. Menge der Kalilauge und Procentgehalt an CO_2	Menge der CO_2 in der Kalilauge.	CO_2-Gehalt der Luft des Apparates. in 1 l.	in 4840 l.	O_2-Bestimmung. O_2-Gehalt der Luft des Apparates. Reduc. Luftvolum mit % O_2.	Menge des O_2.	Menge des zugeleiteten O_2.
Zu Beginn des Versuches:	2. XII. 93 1.45 Uhr Nachm.	66,5 Kgr.	16,8° C.	757,4 mm.	18,8 l. mit 5,916 % CO_2.	1100,0 gr.	0,625 cbcm.	3,025	4486 l. mit 20,915 % O_2.	938,5 l.	105 l. mit 91,4 % O_2 $= \frac{105 . 91{,}4 (756{,}8-14)}{100 . 760 (1+0{,}003665 . 17)} =$
Am Schluss des Versuches:	2. XII, 93 11.45 Uhr Nachts.	66 Kgr.	20,3° C.	755,8 mm.	18,77 l. mit 7,086 % CO_2.	1330,0 gr.	6,22 cbcm.	30,105	4376 l. mit 19,75 % O_2.	864,1 l.	
Dauer 10 Stunden.					Zunahme an 230,0 gr. CO_2: = 117,0 l. + 27,08 l. = 244,08 l. CO_2.				Verbrauch an O_2: 74,4 l. + 88,4 l. O_2 = 162,8 l. O_2.		

	In 24 Stunden.	Pro Kgr. und Minute.
CO_2-Production . . .	343,0 l.	3,595 cbcm.
O_2-Verbrauch	387,5 l.	4,062 cbcm.

Respiratorischer Quotient: 0,885.

6. Versuch am normalen Menschen.

	Zeit und Dauer.	Gewicht der Versuchsperson.	Temperatur im Apparate.	Barometerstand (corrigirt).	CO_2-Bestimmung.				O_2-Bestimmung.		
					Menge der Kalilauge und Procentgehalt an CO_2.	Menge der CO_2 in der Kalilauge.	CO_2-Gehalt der Luft des Apparates.		O_2-Gehalt der Luft des Apparates.		Menge des zugeleiteten O_2.
							in 1 l.	in 4840 l.	Reduc. Luftvolum mit % O_2.	Menge des O_2.	
Zu Beginn des Versuches:	7. XII. 93 8,5 Uhr Abends.	66,815 Kgr.	22,0° C.	751,0 mm.	17,64 l. mit 4,964 % CO_2.	875,1 gr.	1,625 cbcm.	7,865	4343 l. mit 20,9 % O_2.	907,8 l.	263,05 l. mit 92,35 % O_2 u. 98,6 l. mit 80,7 % O_2 $= \frac{263{,}05 . 92{,}35 (750{,}4 - 13{,}8)}{100 . 760 (1 + 0{,}003665 . 17)} = + \frac{98{,}6 . 80{,}7 (751{,}4 - 13{,}8)}{100 . 760 (1 + 0{,}003665 . 17)} =$
Am Schluss des Versuches:	8. XII. 93 8.5 Uhr Abends.	67,0 Kgr.	22,4° C.	747,2 mm.	18,13 l. mit 8,1272 % CO_2	1473,6 gr.	9,77 cbcm.	47,285	4277 l. mit 18,55 % O_2.	793,3 l.	

Dauer 24 Stunden.

Zunahme an 598,5 gr. CO_2: = 304,58 l. + 49,42 l. = 344 l. CO_2.

Verbrauch an O_2: 114,5 + 72,7 l. + 222,0 l. = 409,5 l. O_2.

	In 24 Stunden.	Pro Kgr. und Minute.
CO_2-Production . . .	344 l.	3,57 cbcm.
O_2-Verbrauch . . .	409,5 l.	4,247 cbcm.

Respiratorischer Quotient: 0,841.

7. Versuch am normalen Menschen.

	Zeit und Dauer.	Gewicht der Versuchsperson.	Temperatur im Apparate.	Barometerstand (corrigirt).	CO_2-Bestimmung. Menge der Kalilauge und Procentgehalt an CO_2.	Menge der CO_2 in der Kalilauge.	CO_2-Gehalt der Luft des Apparates. in 1 l.	in 4840 l.	O_2-Bestimmung. O_2-Gehalt der Luft des Apparates. Reduc. Luftvolum mit % O_2.	Menge des O_2.	Menge des zugeleiteten O_2.
Zu Beginn des Versuches:	14. I. 94 9.30 Uhr Vorm.	64,2 Kgr.	19,6° C.	743,4 mm.	14,34 l. mit 0,746 % CO_2.	107,1 gr.	0,9975 cbcm.	4,8 l.	4352 l. mit 20,91 % O_2.	910 l.	250,0 l. mit 85,2 % O_2 u. 217,76 l. mit 93,55 % O_2 (see below)
Am Schluss des Versuches:	15. I. 94. 9.30 Uhr Vorm.	65,0 Kgr.	17,2° C.	753,3 mm.	14,77 l. mit 4,069 % CO_2.	605,1 gr.	9,83 cbcm.	47,5 l.	4430 l. mit 20,48 % O_2.	898 l.	
Dauer 24 Stunden.					Zunahme an 498,0 gr. CO_2: = 253,3 l. + 42,7 l. = 206 l. CO_2.				Verbrauch an O_2: 12 l. + 185,3 l. + 193,7 l. = 391 l. O_2.		

$$= \frac{250.85,2.(749,5-14)}{100.760(1+0,003665.17)} + \frac{217,76.93,55.(747,5-14)}{100.760(1+0,003665.17)}$$

	In 24 Stunden.	Pro Kgr. und Minute.
CO_2-Production . . .	296,0 l.	3,073 cbcm.
O_2-Verbrauch	391,0 l.	4,059 cbcm.

Respiratorischer Quotient: 0,757.

Zusammenstellung der Resultate der mit normalen Menschen angestellten Respirationsversuche.

Name.	Nr.	Zeit.	Dauer.	Procent-Gehalt der Luft des Apparates am Schluss des Versuches an		CO_2-Production.		O_2-Verbrauch.		Respiratorischer Quotient.
				O_2.	CO_2.	In 24 Stunden.	Pro Kgr. und Minute.	In 24 Stunden.	Pro Kgr. und Minute.	
Weber:	I.	20. XI. 93. Von 9 Uhr Vorm. bis 5 Uhr Nachm.	8 St.	20 %	1,1 %	366,45 l.	3,806 cbcm.	417,3 l.	4,322 cbcm.	0,885
Weber:	II.	22. XI. 93. Von 3,9 Uhr Nachm. bis 11.12 U. Nachts.	8 St. 3 M.	20,33 %	0,93 %	305 l.	4,173 cbcm.	445 l.	4,585 cbcm.	0,91
Weber:	III.	25./26. XI. 93. Von 9.5 Uhr Abends bis 7.10 U. Morgens.	10 St. 5 M.	20,1 %	0,723 %	318,3 l.	3,32 cbcm.	357,2 l.	3,725 cbcm.	0,891
Weber:	IV.	29./30. XI. 93. Von 9 Uhr Abends bis 7.5 U. Morgens.	10 St. 5 M.	19,7 %	0,849 %	299 l.	3,117 cbcm.	358,5 l.	3,75 cbcm.	0,834
Weber:	V.	2. XII. 93. Von 1,49 Uhr Nachm. bis 11.45 U. Nachts.	10 St.	19,75 %	0,622 %	343 l.	3,595 cbcm.	387,5 l.	4,062 cbcm.	0,885
Weber:	VI.	7./8. XII. 93. Von 8.5 Uhr Abends bis 8.5 Uhr Abends.	24 St.	18,55 %	0.977 %	344 l.	3,57 cbcm.	409,5 l.	4,247 cbcm.	0,841
Weber:	VII.	14./15. I. 94. Von 9.30 Uhr Vorm. bis 9.30 Uhr Vorm.	24 St.	20,48 %	0,983 %	296 l.	3,073 cbcm.	391 l.	4,059 cbcm.	0,757

Ueber den respiratorischen Stoffwechsel im Diabetes mellitus.

Von

Dr. W. Weintraud, ehemal. Assistenten der medic. Klinik und **Dr. E. Laves,** Assistenten am physiol.-chem. Institut

der Universität Strassburg i. E.

(Der Redaction zugegangen am 6. Juni 1894.)

Die Thatsache, dass bis jetzt Untersuchungen über den respiratorischen Stoffwechsel im Diabetes mellitus erst in beschränkter Zahl vorliegen, veranlasste uns, eine Reihe von Gaswechselversuchen an einem Zuckerkranken anzustellen, den einerseits die Schwere seiner Krankheit, andrerseits selten günstige Ernährungsverhältnisse zu solchen Versuchen besonders geeignet erscheinen liessen.

Die Frage nach der Grösse der Sauerstoffaufnahme im Diabetes, die seit Pettenkofer's und Voit's[1]) bekannten Gaswechseluntersuchungen am Zuckerkranken mehrfach discutirt worden ist, kann heute bei unserer besseren Kenntniss der Gesammtzersetzungen bei der Zuckerkrankheit nicht mehr das gleiche Interesse, wie ehedem, beanspruchen. Der Umfang der Kohlensäure-Bildung beim Diabetiker ist jedoch erst letzthin Gegenstand einer Controverse gewesen, und es ist von Ebstein[2]) geradezu die Nothwendigkeit betont worden, dass neue Gaswechseluntersuchungen am Diabetiker die Grösse der Kohlensäure-Production (ihr Verhältniss zur Sauerstoffaufnahme und namentlich zur Menge des eingeführten oxydabeln Materials) feststellen.

Pettenkofer und Voit hatten auf Grund ihrer Versuchsergebnisse s. Zt. annehmen zu müssen geglaubt, dass Sauerstoffaufnahme und Kohlensäure-Production beim Diabe-

[1]) Pettenkofer und Voit, Zeitschrift f. Biologie, Bd. III, S. 380.

[2]) Ebstein, Ueber die Lebensweise der Zuckerkranken, 1892, S. 141.

tiker herabgesetzt seien. Später hatte Voit[1]) diese Annahme als auf irrthümlichen Berechnungen beruhend, als nicht richtig bezeichnet und ausgesprochen, dass der Diabetiker bei reichlicher Nahrungsaufnahme soviel Sauerstoff aufzunehmen vermöge, wie ein gesunder Mensch.

Auch Leo[2]) schloss aus seinen an 5 Diabetikern angestellten Gaswechselversuchen, dass weder in nüchternem Zustand noch nach Nahrungsaufnahme der Gaswechsel des Diabetikers von der Norm abweiche, da die Werthe für Sauerstoffaufnahme und Kohlensäure-Production, die er für die Diabetiker in seinen Versuchen feststellte, innerhalb der (freilich ziemlich weiten) Grenzen, die für diese Werthe beim Gesunden gelten, schwankten.

Livierato's[3]) Untersuchungsergebnisse sind bei seinen stets wechselnden complicirten Versuchsbedingungen einer Beurtheilung nicht zugänglich.

Voit hatte schon in seinem Handbuch der Physiologie des Stoffwechsels und der Ernährung die Vermuthung ausgesprochen, dass möglicherweise alle Veränderungen in der Stoffzersetzung beim Diabetiker sich aus der Ausscheidung des Zuckers im Harn erklären lassen würden. Diese Vermuthung ist mittlerweile durch eine Reihe von Stoffwechseluntersuchungen an Diabetikern (Lusk[4]), Fr. Voit[5]), Weintraud[6]) mit einer unwesentlichen Beschränkung, auf die weiter unten zurückzukommen sein wird, als richtig erwiesen worden. Es kann als eine gesicherte Thatsache betrachtet werden, dass der Diabetiker kein gesteigertes Calorienbedürfniss und bei aus-

---

[1]) Voit, Handbuch d. Physiol. d. Stoffwechsels, 1881, S. 226.

[2]) Leo, Ueber d. resp. Stoffwechsel bei Diabetes mellitus. Zeitschr. f. klin. Med., XIX, Supplement.

[3]) Livierato. Ueber die Schwankungen der vom Diabetiker ausgeschiedenen Kohlensäure bei wechselnder Diät. Arch. f. exp. Path. u. Pharm., Bd. 25, 5, 161. 1889.

[4]) Lusk. Ueber d. Einfluss d. Kohlehydrate auf d. Eiweisszerfall, Zeitschr. f. Biologie, Bd. XXVII, S. 459, 1891.

[5]) Fr. Voit, Ueber d. Stoffwechsel bei Diabetes mell. Zeitschr. f. Biologie, Bd. XXX.

[6]) Weintraud, Ueber d. Stoffwechsel bei Diabet. mell. Bibliotheca medica, Abtheilg. D, Heft I, Kassel, Theod. Fischer.

reichender Calorienzufuhr in für ihn verwerthbarem Nahrungsmaterial keinen gesteigerten Eiweisszerfall hat.

Bei der grösseren Genauigkeit der Methoden zur Bestimmung der festen Stoffwechselproducte war es leichter möglich, durch Analyse der Nahrung einerseits und des Urines und Kothes andererseits diese Thatsache festzustellen, als durch Untersuchung des respiratorischen Stoffwechsels, da bei Gaswechseluntersuchungen nicht allein der Methodik anhaftende Unvollkommenheiten, sondern auch in der Versuchsanordnung begründete, nicht zu vermeidende Mängel die Beurtheilung der Versuchsergebnisse stets erschweren.

Wenn wir trotzdem an unserem Kranken, an welchem zahlreiche, namentlich auf den Eiweissstoffwechsel gerichtete Untersuchungen bereits früher ausgeführt waren (Weintraud l. c.), Gaswechseluntersuchungen unternahmen, so sind wir uns, so günstig auch in vielen Beziehungen die Bedingungen für unsere Versuche lagen, doch wohl bewusst, dass die Ergebnisse derselben keineswegs ganz eindeutig sind.

Die Versuche wurden mit dem grossen Respirations-Apparat des Strassburger physiologisch-chemischen Institutes angestellt, der uns von Herrn Prof. Hoppe-Seyler in liebenswürdigster Weise dazu zur Verfügung gestellt wurde. Auch hat uns Herr Prof. Hoppe-Seyler bei der Ausführung der Versuche vielfach mit seinem Rath unterstützt, wofür wir auch an dieser Stelle unsern wärmsten Dank aussprechen.

Der Apparat gestattet erstens eine directe Bestimmung des verbrauchten Sauerstoffs und der producirten Kohlensäure und erlaubt zweitens, die Versuche über längere Zeit auszudehnen. Er vereinigt somit die Vorzüge des Respirations-Apparates von Voit und Pettenkofer mit demjenigen der Zuntz-Geppert'schen Methode zur Bestimmung des Gaswechsels. Nach beiden Methoden sind bereits Gaswechseluntersuchungen an Diabetikern angestellt worden, und zwar mit dem ersterwähnten Apparat von Voit und Pettenkofer selbst, mit dem Zuntz-Geppert'schen von Leo.

Auf eine Kritik dieser beiden Methoden und der damit angestellten Versuche soll hier nicht näher eingegangen werden;

doch muss zugegeben werden, dass sowohl der Einwand Leo's gegen die Sauerstoffbestimmungen in den Voit-Pettenkofer'schen Versuchen, als auch Fr. Voit's Bedenken gegen Leo's kurzdauernde Versuche nach der Zuntz-Geppert'schen Methode nicht unberechtigt erscheinen.

Zu einer grösseren Vollkommenheit der Methodik gesellten sich in unseren Versuchen sodann besonders günstige Verhältnisse bezüglich der von dem Kranken abhängigen Versuchsbedingungen:

1. litt der Kranke, an dem die Versuche angestellt sind, an einem sehr schweren Diabetes, d. h. es war die zuckerconsumirende Function bei ihm sehr stark geschädigt und er schied dauernd im Urin Aceton, Acetessigsäure und β-Oxybuttersäure aus;
2. war sein Urin zur Zeit der Versuche in Folge der diätetischen Behandlung zuckerfrei resp. so gut wie zuckerfrei, denn er enthielt nur in einer Menge, die für die Stoffwechselbilanz nicht in Betracht kommen konnte, Traubenzucker. (Die Trommer'sche Probe fiel sets negativ aus und nur bei Behandlung mit Phenylhydrazin erhielt man Krystalle von Phenylglukosazon in etwas reichlicherer Menge als bei gesunden Individuen.)
3. war der Kranke mit der ihm gereichten kohlehydratfreien, eiweissarmen und fettreichen Diät seit Monaten nicht nur in Stoffwechsel- sondern auch in Stickstoffgleichgewicht.

Wir lassen einen Auszug aus der Krankengeschichte folgen:

T., 27 Jahre alt, Schneider.

Pat. gibt an, seit Anfang 1892 krank zu sein. Quälendes Hautjucken und weit verbreitete hartnäckige Furunkulose waren die ersten Krankheitserscheinungen, grosse Mattigkeit in den Gliedern, starke Steigerung des Hunger- und Durstgefühls, zugleich mit enormer Zunahme der täglichen Urinmenge folgten alsbald. Selbst mit 6—7 Liter Wasser vermochte der Kranke seinen Durst nicht mehr zu stillen.

Wegen der genannten Beschwerden wurde er am 5. V. 92 zum ersten Male auf die Klinik aufgenommen, wo er bis zum 29. VIII. 92 verblieb. Nachdem er daselbst bei rein diätetischer Behandlung zuckerfrei geworden war und erheblich an Körpergewicht zugenommen hatte, verliess er das Hospital, konnte indessen ausserhalb aus pecuniären Gründen die vorgeschriebene Diät nicht einhalten und kam darum am 15. IX. 92 von Neuem, im Wesentlichen mit den gleichen Beschwerden, zur Aufnahme.

Trotz vollständiger Entziehung der Kohlenhydrate aus der Nahrung gelang es jetzt nicht mehr, den Zucker aus dem Urin des Kranken zum Schwinden zu bringen. Er vermochte mit einem Kostmass, das ca. 138 gr. Eiweiss und 147 gr. Fett enthielt, sich in Stickstoffgleichgewicht zu setzen und an Körpergewicht zuzunehmen, ohne dass jedoch der Urin vollkommen zuckerfrei geworden wäre. Selbst eine allmälige Verminderung der Eiweissmenge der Nahrung auf 85 gr. bei gleichzeitiger Fettzulage konnte die Zuckerausscheidung nicht beseitigen. Diese verschwand erst, als der Kranke einen Tag lang sich vollständig der Nahrung enthielt. Die Zuckerausscheidung, die trotz kohlenhydratfreier Diät noch bestanden und 10—20 gr. pro Tag betragen hatte, sistirte an dem Hungertag und kehrte auch nicht zurück, als sogleich die frühere Diät wieder gereicht wurde. Nach einiger Zeit konnte sogar die Eiweissration von 85 gr. auf 100 gr. erhöht werden, ohne dass Glykosurie eintrat, und es zeigte sich, dass der Kranke mit der gereichten Kost von 100 gr. Eiweiss und 270 gr. Fett sowohl sein Körpergewicht wie seinen Eiweissbestand dauernd zu bewahren im Stande war.

Die gleiche Kost, die der Kranke seit Anfang April genoss, behielt er bei Beginn unserer Versuche (Juli 1893) noch bei und deckte damit, während das Körpergewicht nur noch unbedeutend zunahm, eben seine Ausgaben an Kraft und Arbeit, wie gleichzeitig angestellte Untersuchung der festen Ausscheidungen ergab.

Bei den 3 ersten Gaswechselversuchen war eine Aenderung der gewohnten Diät nicht eingetreten.

Die Versuchs-Protokolle sind nachstehend wiedergegeben:

1. Versuch am Diabetiker.

	Zeit und Dauer.	Gewicht der Versuchsperson.	Temperatur im Apparate.	Barometerstand (corrigirt).	CO_2-Bestimmung.				O_2-Bestimmung.		
					Menge der Kalilauge und Procentgehalt an CO_2.	Menge der CO_2 in der Kalilauge.	CO_2-Gehalt der Luft des Apparates.		O_2-Gehalt der Luft des Apparates.		Menge des zugeleiteten O_2.
							in 1 l.	in 4840 l.	Reduc. Luftvolum mit % O_2.	Menge des O_2.	
Zu Beginn des Versuches:	1. VII. 93 10.15 Uhr Vorm.	63,8 Kgr.	24,0° C.	752,4 mm.	19,025 l. mit 1,2972 % CO_2.	246,8 gr.	0,803 cbcm.	4,886	4326 l. mit 20,91 % O_2.	905 l.	183,58 l. mit 82,95 % O_2 $= \frac{183{,}58 . 82{,}95 (751{,}2 - 17{,}2)}{100 . 760 (1 + 0{,}0036665 . 20)} =$
Am Schluss des Versuches:	1. VII. 93 7.56 Uhr Nachm.	65 Kgr.	24,2° C.	750,0 mm.	19,170 l. mit 2,6812 % CO_2.	514,0 gr.	6,9445 cbcm.	33,612	4260 l. mit 19,15 % O_2.	816,2 l.	

Dauer 9 Stunden 41 Min.

Zunahme an 267,2 gr.
CO_2: $= \underbrace{134{,}7 \text{ l.} + 29{,}726 \text{ l.}}_{164{,}426 \text{ l. } CO_2.}$

Verbrauch an O_2: $\underbrace{88{,}8 \text{ l.} + 147{,}33 \text{ l. } O_2.}_{236{,}13 \text{ l. } O_2.}$

	In 24 Stunden.	Pro Kgr. und Minute.
CO_2-Production . . .	408 l.	4,425 cbcm.
O_2-Verbrauch . . .	582,4 l.	6,23 cbcm.

Respiratorischer Quotient: 0,7.

2. Versuch am Diabetiker.

	Zeit und Dauer.	Gewicht der Versuchsperson.	Temperatur im Apparate.	Barometerstand (corrigirt).	CO_2-Bestimmung. Menge der Kalilauge und Procentgehalt an CO_2.	Menge der CO_2 in der Kalilauge.	CO_2-Gehalt der Luft des Apparates. in 1 l.	in 4840 l.	O_2-Bestimmung. O_2-Gehalt der Luft des Apparates. Reduc. Luftvolum mit % O_2.	Menge des O_2.	Menge des zugeleiteten O_2.
Zu Beginn des Versuches:	6. VII. 93 10.15 Uhr Vorm.	63,8 Kgr.	24,4° C.	748,7 mm.	17,78 l. mit 2,543 % CO_2.	452,1 gr.	0,6407 cbcm.	3,102	4280 l. mit 20,92 % O_2.	895,6 l.	192,72 l. mit 92,2 % O_2. $= \frac{199,72 \cdot 92,2\,(748,0-16,0)}{100 \cdot 760\,(1+0,003665 \cdot 17)} =$
Am Schluss des Versuches:	6. VII. 93 7.52 Uhr Nachm.	64,6 Kgr.	25,4° C.	745,8 mm.	17,84 l. mit 3,763 % CO_2.	671,4 gr.	6,563 cbcm.	31,67	4205 l. mit 19,8 % O_2.	832,6 l.	

Dauer: 9 Stunden 37 Min.

Zunahme an 219,3 gr.
$CO_2 := \underbrace{111,632\,l. + 28,568\,l.}_{140,1\,l.\ CO_2.}$

Verbrauch an O_2: $\underbrace{63\,l. + 164,77\,l.}_{227,77\,l.\ O_2.}$

	In 24 Stunden.	Pro Kgr. und Minute.
CO_2-Production . . .	549,7 l.	3,795 cbcm.
O_2-Verbrauch	568 l.	6,164 cbcm.

Respiratorischer Quotient: 0,617.

3. Versuch am Diabetiker.

	Zeit und Dauer.	Gewicht der Versuchsperson.	Temperatur im Apparate.	Barometerstand (corrigirt).	CO_2-Bestimmung. Menge der Kalilauge und Procentgehalt an CO_2.	Menge der CO_2 in der Kalilauge.	CO_2-Gehalt der Luft des Apparates. in 1 l.	in 4840 l.	O_2-Bestimmung. O_2-Gehalt der Luft des Apparates. Reduc. Luftvolum mit % O_2.	Menge des O_2.	Menge des zugeleiteten O_2.
Zu Beginn des Versuches:	14. VII. 93 9.48 Uhr Abends.	64,6 Kgr.	21,5° C.	745,2 mm.	17,99 l. mit 3,4597 % CO_2.	622.4 gr.	0,6512 cbcm.	3,21	4324 l. mit 20,92 % O_2.	905,0 l.	59,21 l. mit 84,84 % O_2 u. 178 l. mit 92,2 % O_2
Am Schluss des Versuches:	15. VII. 93 7.13 Uhr Morgens.	63,9 Kgr.	21,0° C.	749,5 mm.	18,07 l. mit 4,5087 % CO_2.	819,1 gr.	7,085 cbcm.	34,31	4322 l. mit 20,62 % O_2.	891,2 l.	

$$=\frac{59{,}21 \cdot 84{,}84\,(747{,}3-15{,}3)}{100 \cdot 760\,(1+0{,}003665 \cdot 18)} + \frac{178{,}17 \cdot 92{,}2\,(747{,}3-15{,}3)}{100 \cdot 860\,(1+0{,}003665 \cdot 18)} =$$

Dauer 9 Stunden 25 Min.

Zunahme an 1967 gr.
CO_2: = 101,0 l. + 31,6 l. = 132,6 l. CO_2

Verbrauch an O_2: 13,8 + 148,41 l. + 45,39 l. = 207,6 l. O_2.

	In 24 Stunden.	Pro Kgr. und Minute.
CO_2-Production . . .	339 l.	3,65 cbcm.
O_2-Verbrauch	529,3 l.	5,744 cbcm.

Respiratorischer Quotient: 0,64.

Zur Beurtheilung der Versuchsergebnisse, die in der am Schluss angefügten Tabelle VI zusammengestellt sind, ist vor Allem die Menge und Art der von dem Kranken an den Versuchstagen genossenen Nahrung zu berücksichtigen. Wir wissen, dass die Sauerstoffaufnahme ein secundärer, nach dem Zerfall von Nahrungsmaterial und nach dem Sauerstoffverbrauch im Organismus sich richtender Vorgang und desshalb von der Nahrungsaufnahme in hohem Masse abhängig ist.

Die Nahrungszufuhr war bei unserem Kranken in der Periode, in welcher die mitgetheilten 3 Versuche stattfanden, anscheinend übermässig, wenigstens war der Calorienwerth der Nahrung ausserordentlich gross. Er betrug 3120 Cal., also ca. 49 Cal. pro Kgr. Körpergewicht, ein Werth, der bei mässiger Körperbewegung schon als hoch, bei vollständiger Ruhe, wie sie unser Kranker während der Versuchszeit beobachten musste, aber als sehr bedeutend bezeichnet werden kann.

Die Nothwendigkeit, bei relativ geringer Eiweissdarreichung allein mit Fett als Eiweisssparer seinen Stoffbestand zu schützen und der therapeutischen Gesichtspunkten entspringende Wunsch, Fettansatz bei ihm zu Stande zu bringen, hatten dazu geführt, durch reichliche Fettzulage seiner Nahrung einen so hohen Calorienwerth zu geben.

Stoffwechseluntersuchungen am gesunden Menschen bei ausschliesslicher Eiweiss-Fett-Diät liegen noch nicht vor. Es ist nicht ausgeschlossen, dass auch der Gesunde, wenn er bei geringen Eiweissmengen lediglich mit Fett seinen Organbestand schützen soll, davon zunächst relativ grosse Mengen und somit eine Nahrung von bedeutendem calorischen Werth braucht. Späterhin ist, wie die Versuche an unserem Kranken lehrten, eine so bedeutende Calorienzufuhr nicht mehr erforderlich, wenn auch die neueren vergleichenden Untersuchungen über die eiweisssparende Kraft der Kohlenhydrate und der Fette, die eine geringere Leistungsfähigkeit der letzteren ergeben haben, auf die Nothwendigkeit eines sehr reichlichen Fettgehaltes der Nahrung bei Ausschluss der Kohlenhydrate hinweisen.

Bei unserem Kranken hatte, wie die Beobachtung des Körpergewichtes lehrt, trotz der reichlichen Fettnahrung ein

erheblicher Fettansatz in der letzten Zeit nicht mehr stattgefunden; die Nahrung war also bei der gewöhnlichen Lebensweise des Kranken auf dem Krankensaal, wo er sich mit leichteren Arbeiten beschäftigte, eben ausreichend; für die Versuchstage, wo er absolute Ruhe beobachtete, kann sie freilich eine Uebererernährung ermöglicht haben, worauf weiter unten zurückzukommen sein wird.

Durch die Versuche wurde die Speiseaufnahme des Kranken etwas gestört, sodass die Verhältnisse derselben nicht während aller Versuche die gleichen waren. Er war gewöhnt, seine Nahrung, die aus 350 gr. magerem Fleisch, 100 gr. Speck, 150 gr. Butter, 120 gr. grünem Salat mit 28 gr. Oel, 120 gr. Sauerkraut und 40 cbcm. Spir. vin. rect. (100 gr. Eiweiss und 280 gr. Fett) bestand, auf nur 2 Mahlzeiten vertheilt, zu sich zu nehmen; den grösseren Theil verzehrte er vormittags gegen 11 Uhr, den Rest nachmittags um $^1/_2$5 Uhr. In der Zwischenzeit enthielt er sich jeder Nahrung.

Bei dem ersten Versuch hatte die erste Mahlzeit (65 gr. Eiweiss und 177 gr. Fett) früher als gewöhnlich, unmittelbar vor Beginn des Versuches um 9$^1/_2$ Uhr Vormittags stattgefunden; den Rest verzehrte der Kranke während des Versuches in dem Apparat um 1 Uhr 30 Min. Mittags (6$^1/_2$ Stunden vor Beendigung des Versuches).

Bei dem zweiten Versuch hatte die erste Mahlzeit in der gleichen Weise wie beim ersten Versuch unmittelbar vor Beginn des 9$^1/_2$stündigen Versuchs statt; den Rest verzehrte der Kranke erst nach Beendigung des Versuches, so dass er für denselben nicht mehr in Betracht kommt.

Bei dem dritten Versuch nahm der Kranke seine Mahlzeiten zu gewohnter Stunde um 11 Uhr und 4$^1/_2$ Uhr. Der Versuch begann Abends 9 Uhr 48 Min., also 5 Stunden nach der letzten Nahrungsaufnahme und endete Morgens 7 Uhr 13 Min. Der Kranke genoss während des ganzen Versuches nichts und schlief zumeist.

A. Die Sauerstoff-Aufnahme.

Dieselbe schwankte in den 3 Versuchen innerhalb naheliegender Grenzen. Sie betrug in absoluten Zahlen für 1 Stunde

berechnet: 1. 34,6 gr., 2. 33,8 gr., 3. 31,5 gr. (also 33,3 gr. im Mittel). Pro Kgr. Körpergewicht in der Minute: 1. 6,23 cbcm., 2. 6,16 cbcm., 3. 5,74 cbcm.

Entsprechend dem hohen calorischen Werth der Nahrung sind die absoluten Zahlen des aufgenommenen Sauerstoffs sehr gross.

Nach Rubner's Berechnungen verbraucht 1 gr. aschefreies Muskeleiweiss bei Verbrennung zu den Stoffwechselendproducten des Eiweisses 1,4 gr. Sauerstoff und 1 gr. Fett zur Verbrennung zu Kohlensäure und Wasser 2,85 gr. Sauerstoff. Es würden also die in der 24stünd. Kost unseres Kranken enthaltenen 100 gr. Eiweiss und 280 gr. Fett, vollständige Verbrennung vorausgesetzt, $140 + 798 = 938$ gr. Sauerstoff in 24 Stunden, also 38 gr. pro Stunde verlangen. Wenn man erwägt, dass von der genossenen Nahrung ein Theil der Resorption entging, so entspricht der in den Versuchen gefundene Mittelwerth (33,3 gr.) ungefähr der berechneten Zahl.

Es bestätigen also die Versuche die Annahme, dass auch im schweren Diabetes der Organismus diejenigen Mengen Sauerstoffs aufzunehmen im Stande ist, deren er zur Verbrennung des eingeführten oxydationsfähigen Materials bedarf, selbst wenn, wie bei unserem Kranken, infolge der Kohlenhydratentziehung und der Nothwendigkeit, im Wesentlichen mit Fett den Calorienbedarf zu decken, durch reichliche Nahrungszufuhr besonders hohe Anforderungen an die Sauerstoffaufnahme gestellt werden.

In der That sind die Werthe 6,23, 6,16 und 5,74 cbcm. pro Kgr. und Minute bei vollständiger Körperruhe recht hoch und übertreffen sämmtliche in den neueren Untersuchungen über den respiratorischen Stoffwechsel durch directe Bestimmung des Sauerstoffs gefundene Ruhewerthe für den gesunden erwachsenen Menschen um ein ganz Beträchtliches (Katzenstein[1]), Magnus-Levy[2]). In Katzenstein's Untersuchungen schwankten die Werthe zwischen 4,66 und 3,36 cbcm., sodass der von uns gefundene Mittelwerth (6,04 cbcm.

---

1) Katzenstein, Pflüger's Archiv, Bd. 49, S. 330.

2) Magnus-Levy, Pflüger's, Bd. 54.

pro Minutenkilo) um mehr als 29 % das von Katzenstein beobachtete Maximum übersteigt.

B. Die Kohlensäure-Production.

Weniger einfach als die Beurtheilung der gewonnenen Werthe für die Sauerstoffaufnahme ist die Beurtheilung der gefundenen Zahlen für die Kohlensäure-Production. Es bleiben in sämmtlichen 3 Versuchen die erhaltenen Werthe hinter den theoretisch berechneten Zahlen weit zurück.

Wenn man mit Rubner annimmt, dass bei Verbrennung zu seinen Stoffwechselendproducten 1 gr. aschefreies Muskelfleisch, 1,5 gr. Kohlensäure und 1 gr. Fett 2,8 gr. Kohlensäure liefert, so berechnet sich für die 24stündige Kost unseres Kranken (100 gr. Eiweiss und 280 gr. Fett) 934 gr. Kohlensäure, eine Zahl, welche in keinem der 3 Versuche die gefundenen Werthe auch nur annähernd erreichten.

Auch mit einander verglichen, differiren die Zahlen 1. 34,4 gr., 2. 28,6 gr., 3. 27,7 gr. CO_2 pro Stunde erheblicher, indessen muss die Verschiedenheit der Bedingungen der Nahrungsaufnahme zur Aufklärung dieser Differenz mit herangezogen werden.

In dem ersten Versuch, wo die Kohlensäure-Production am grössten war, war auch die Nahrungsaufnahme am reichlichsten und der ganze Versuch fiel in die Verdauungsperiode. Bei dem zweiten war die Nahrungsaufnahme beträchtlich geringer, da der Kranke während des 9½stündigen Versuchs nichts genoss. Der dritte Versuch begann zu einer Zeit, wo die Verdauung schon zu Ende ging und eine Speiseaufnahme hatte während desselben überhaupt nicht statt, Bezeichnen wir den hier gefundenen Kohlensäurewerth, der dem Nüchternwerth nahe stehen dürfte, mit 100, so beträgt im Versuch II die Kohlensäure-Production 103 und im Versuch I 120.

Die geringen absoluten Werthe der ausgeschiedenen Kohlensäure sind jedenfalls auffallend und bedürfen einer eingehenden Besprechung, zumal es nahe liegt, einen solchen Befund zu Gunsten der Ebstein'schen Theorie des Diabetes zu verwerthen, nach welcher eine mangelhafte Kohlensäure-Bildung in den Geweben der Zuckerkranken statthaben soll.

Ebstein geht von der experimentell festgestellten Thatsache aus, dass Kohlensäure die Wirkung der diastatischen Fermente im Organismus hemme und er behauptet, dass bei der verminderten Kohlensäure-Bildung in den Geweben des Diabetikers das Glykogen rascher und vollständiger in Zucker umgesetzt werde und die dadurch entstehende Hyperglykämie Glykosurie zur Folge habe. Die Verminderung der Kohlensäure-Bildung soll nur eine relative sein, d. h. das pathologisch veranlagte Protoplasma soll aus dem zugeführten Nahrungsmaterial weniger Kohlensäure bilden als den in der kohlenstoffhaltigen zu Verbrennung gelangenden Materie enthaltenen Kohlenstoffatomen entspricht. Sie ist die primäre Störung im Diabetes, an die sich naturgemäss eine relative Verminderung der Sauerstoffaufnahme als secundäre Störung anschliesst. «Diese resultirt beim Diabetes mellitus nicht aus dem Unvermögen des Kranken, eine genügende Menge von Sauerstoff zu absorbiren, sondern sie ist vielmehr als das Resultat des beim Diabetes herabgesetzten Sauerstoffbedürfnisses anzusehen. Letzteres ist die nothwendige Folge der bei der Zuckerharnruhr statthabenden Verminderung der Oxydation, wodurch sich die Kohlensäure-Production und damit die Kohlensäure-Ausscheidung vermindert[1])».

Ebstein's Ansicht von der Rolle, welche die bei der inneren Athmung der Zuckerkranken in relativ zu geringer Menge sich entwickelnde Kohlensäure bei diesem Krankheitsprocess spielen soll, stützt sich in erster Linie auf die Untersuchungen von Pettenkofer und Voit, welche ergeben hatten, dass ein solcher Kranker, obwohl er im Verhältniss mehr Eiweiss als ein Gesunder zum Zerfall bringt und mehr von dem in der Nahrung aufgenommenen oder im Körper vorhandenen Fett zerstört, trotzdem unter sonst gleichen Umständen wesentlich weniger Sauerstoff bindet und weniger Kohlensäure ausscheidet als der gesunde Mensch.

Dieses Versuchsergebniss von Pettenkofer und Voit unterliegt, wie bereits oben erwähnt, heute einer ganz anderen

---

[1]) Ebstein, die Zuckerharnruhr, ihre Theorie und Praxis, 1887.

Beurtheilung. Wir wissen jetzt, dass der vermehrte Eiweiss- und Fett-Zerfall im Diabetes lediglich die Folge des Ausfalls an Calorien ist, den der Zuckerkranke bei seinem Unvermögen, Kohlenhydrate zu verbrennen, erleidet und wir wissen weiter, was auch aus unseren Versuchen evident hervorgeht, dass auch die Sauerstoffaufnahme beim Diabetiker den Werth erreichen kann, der der Zufuhr an für ihn oxydabelem Material entspricht.

Es besteht also beim zuckerfreien Diabetiker nicht die allgemeine Verminderung der Oxydation infolge mangelhafter Beschaffenheit des Protoplasma, durch die, wie Ebstein annimmt, eine Verminderung der Kohlensäure-Production bewirkt wird, es besteht nicht eine Abnahme der Grösse des Gaswechsels, die man, wie es von Ebstein geschehen ist, derjenigen im Hungerzustand z. B. gleichsetzen kann.

In Wirklichkeit finden ja in den schweren Formen der Zuckerkrankheit, deren eine unsere Versuchsperson aufwies, hier und da auch nach dem Verschwinden der Zuckerausscheidung noch Stoffwechselstörungen statt, die in Störungen der Oxydation bestehen. Als ihre Folge ist die Ausscheidung von Aceton, Acetessigsäure und β-Oxybuttersäure anzusehen. Diese Oxydationsstörung hat aber mit dem diabetischen Process unmittelbar nichts zu thun, wenigstens ist von ihr fast gewöhnlich nichts zu bemerken. Ihre Ursache ist noch völlig dunkel und sie mit der Steigerung des Eiweisszerfalls, wenn solche auch oft gleichzeitig beim Diabetiker zu beobachten ist, erklären zu wollen, wie es vielfach (auch von Ebstein) geschieht, geht nicht an, da unser Kranker Monate lang mit Eiweissmengen von 85—100 gr. in Stickstoffgleichgewicht war, somit sicher keinen gesteigerten Eiweisszerfall hatte und dennoch dauernd im Urin Aceton, Acetessigsäure und Oxybuttersäure ausschied.

Es ist hier nicht der Platz, näher auf die Ursachen der Bildung und Ausscheidung dieser Substanzen einzugehen. Hervorgehoben muss aber werden, dass dieselbe Ausdruck einer Oxydationsstörung ist, infolge deren in den Geweben weniger Kohlensäure aus zugeführtem kohlenstoffhaltigem Material gebildet wird, als bei Oxydation zu Kohlensäure und

Wasser. Die zur Ausscheidung gekommenen Mengen von Aceton, Diacetsäure und Oxybuttersäure sind in unserem Fall jedoch viel zu gering, als dass der Ausfall an Kohlensäure durch sie erklärt werden könnte.

Es lässt sich also die in unseren Versuchen hervorgetretene verminderte Kohlensäureausscheidung in keiner Weise zu Gunsten der Ebstein'schen Theorie als Folge einer verminderten Kohlensäurebildung in den Geweben verwerthen, zumal es sich ja auch nicht um eine relative, sondern um eine absolute Herabsetzung der Kohlensäure-Production handelt.

Eine Erklärung für sie ist nur möglich, wenn man annimmt, dass kohlenstoffhaltiges Material während der Versuche im Organismus zurückgehalten wurde. Es ist ja auch nicht unwahrscheinlich, dass die reichliche Nahrung, die für den Kranken bei seiner gewohnten Lebensweise nicht nur zu Stoffwechselgleichgewicht, sondern sogar zu geringem Stoffansatz ausreichte, an den Versuchstagen, an welchen er absolute Ruhe beobachtete, eine überreichliche war, sodass Fett zum Ansatz kam oder gar Glykogen (aus dem Eiweiss) aufgespeichert wurde. Die letztere Möglichkeit sei hier nur angedeutet, da weiter unten darauf zurückzukommen sein wird.

C. Der respiratorische Quotient.

Derselbe war in den 3 Versuchen ausserordentlich niedrig und betrug 0,7, 0,617 und 0,64, was natürlich durch die relativ geringe Kohlensäure-Production und grosse Sauerstoffaufnahme bedingt war.

Da unsere Versuchsperson seit Monaten eine kohlenhydratfreie Kost genommen, so participiren an seinem Stoffwechsel nur Eiweiss und Fett, das gleiche Material, das auch im Hunger den Kraftwechsel unterhält. Es ist klar, dass der respiratorische Quotient demjenigen im Hungerzustand desshalb nahe stehen muss.

Nach den vorliegenden Untersuchungen von Lehmann und Zuntz wird beim hungernden Menschen in vollständiger Ruhe der Energieumsatz am 6. resp. 10. Hungertage zu 18 resp. 17,5 % von Eiweiss und zu 82 resp. 81,5 % vom Fett bestritten. In der Nahrung unseres Kranken repräsentirte

die Betheiligung des Eiweisses am Gesammtcalorienwerth nur 13,5%. Nicht weniger als 86,5% wurden vom Fett gedeckt. Es herrschte also das Fett in der Betheiligung am Umsatz noch mehr vor als beim hungernden Individuum und es muss der respiratorische Quotient desshalb dem Verhältniss nahestehen, in dem bei Verbrennung von Fett zu CO_2 und Wasser Sauerstoff verbraucht und Kohlensäure gebildet wird.

1 gr. Butterfett verbraucht dabei nach Rubner 2,841 gr. Sauerstoff und liefert 2,773 gr. Kohlensäure, sodass das Verhältniss der entsprechenden Gasvolumina, der respiratorische Quotient 0,71 beträgt.

Die gleiche Zahl wurde auch in dem ersten unserer Versuche als respiratorischer Quotient unseres Kranken gefunden.

Die bedeutend geringeren Werthe (0,617 und 0,64), welche in den anderen Versuchen gefunden wurden, lassen sich nur verstehen, wenn man annimmt, dass während dieser Versuche, in welchen der Kranke vollständige, auch durch Nahrungsaufnahme nicht gestörte Ruhe beobachtete, kohlenstoffhaltiges Material, voraussichtlich Glykogen, aufgespeichert wurde.

Auch die Bildung von Aceton, Acetessigsäure und Oxybuttersäure muss ja eine Verminderung des resp. Quotienten zur Folge haben, da dabei Sauerstoff gebunden wird, ohne dass entsprechende Kohlensäure-Mengen abgeschieden werden:

$$C_{18}H_{36}O_2 + 2\,O_2 = 6\,C_3H_6O;$$
Stearinsäure. Aceton.

$$2\,C_{18}H_{36}O_2 + 16\,O_2 = 9\,C_4H_6O_3 + 9\,H_2O;$$
Stearinsäure Acetessigsäure.

$$4\,C_{18}H_{36}O_2 + 23\,O_2 = 18\,C_4H_8O_3;$$
Stearinsäure. Oxybuttersäure[1]).

Bei unserem Kranken waren die Mengen der genannten Stoffe viel zu klein, als dass durch ihre Bildung eine be-

[1]) Selbstverständlich liegt uns ferne, anzunehmen, dass die Bildung der genannten Substanzen in dieser Weise erfolge; ihre directe Entstehung aus Fett ist wohl an und für sich ausgeschlossen. Die Stearinsäure ist allein desshalb gewählt, um im Schema als Beispiel zu dienen für die dem Organismus zur Bildung der betr. Substanzen zur Verfügung stehenden stickstofffreien Stoffe.

merkenswerthe Herabsetzung des resp. Quotienten hätte verursacht werden können. Die Oxybuttersäure-Ausscheidung im Urin betrug höchstens wenige Gramm in 24 Stunden[1]), die Acetonmenge desselben schwankte zwischen 1 und $1^1/_2$ gr. pro Tag und wenn auch unbestimmbare Mengen von Aceton beständig mit der Athemluft ausgeschieden wurden (durch einen Flaschen-Apparat mit Müller'schen Ventilen geblasen erzeugte die Exspirationsluft in alkalischer Jodlösung stets einen Jodoformniederschlag), so handelte es sich doch um wenige Milligramme auf diesem Wege ausgeschiedenen Acetons. Der geringe Werth des respiratorischen Quotienten ist also offenbar nicht dadurch bedingt, sondern wahrscheinlich durch Anhäufung von Glykogen im Organismus.

Dass derselbe auch im schweren Diabetes einer Glykogenbildung noch fähig ist, kann keinem Zweifel unterliegen. Wie reichlicher Sauerstoffverbrauch ohne entsprechende Kohlensäurebildung, also Herabsetzung des respiratorischen Quotienten, dadurch zu Stande kommt, kann man sich ebenfalls an einer schematischen Formel verständlich machen:

$$\underset{\text{Stearinsäure.}}{2\, C_{18}H_{36}O_2} + 16\, O_2 = \underset{\text{Glykogen.}}{6\, C_6H_{10}O_5} + 6\, H_2O.$$

Bemerkenswerth ist, dass auch Leo bei seinen Gaswechseluntersuchungen an Diabetikern mehrfach so niedrige Werthe fand, die sich allein mit Retention kohlenstoffhaltigen Materials im Körper erklären lassen.

Der niedrige Werth, den wir in den 3 besprochenen Versuchen für den resp. Quotienten gefunden hatten und der durch das ausschliessliche Verbrennen von Fett- und Eiweissmolekülen im Stoffwechsel unseres Kranken in erster Linie bedingt war, veranlasste uns 2 weitere Versuche unter gleichzeitiger Darreichung von Kohlenhydraten anzustellen, um zu prüfen, ob entsprechend der Einfuhr von Kohlenhydratmolekülen eine Steigerung der Kohlensäure-Production und eine Erhöhung des resp. Quotienten eintreten werde.

---

[1]) Aus der gesammelten Urinmenge von 6 Tagen wurden 10 gr. Oxybuttersäure rein gewonnen.

4. Versuch am Diabetiker.

	Zeit und Dauer.	Gewicht der Versuchsperson.	Temperatur im Apparate.	Barometerstand (corrigirt).	CO_2-Bestimmung.				O_2-Bestimmung.		
					Menge der Kalilauge und Procentgehalt an CO_2.	Menge der CO_2 in der Kalilauge.	CO_2-Gehalt der Luft des Apparates.		O_2-Gehalt der Luft des Apparates.		Menge des zugeleiteten O_2.
							in 1 l.	in 4840 l.	Reduc. Luftvolum mit % O_2.	Menge des O_2.	
Zu Beginn des Versuches:	24. VII. 93 10.15 Uhr Morgens.	66,5 Kgr.	22,0° C.	749,5 mm.	18,41 l. mit 4,16 % CO_2.	766,8 gr.	0,592 cbcm.	2,84	4330 l. mit 20,92 % O_2.	905 l.	237,29 l. mit 84,84 % O_2. $= \frac{236,29 . 84,84 (752,3 - 15,3)}{100 . 760 (1 + 0,003665 . 18)} =$
Am Schluss des Versuches:	24. VII. 93 7.15 Uhr Abends.	65,5 Kgr.	22,0° C.	752,5 mm.	18,6 l. mit 5,243 % CO_2.	975,2 gr.	7,489 cbcm.	35,64	4320 l. mit 20,59 % O_2.	889 l.	
Dauer: 9 Stunden.					Zunahme an 208,4 gr. CO_2: = 106,4 l. + 32,8 l. = 139,2 l. CO_2.				Verbrauch an O_2: 16,0 + 183,5 l. O_2. = 199,5 l. O_2.		

	In 24 Stunden.	Pro Kgr. und Minute.
CO_2-Production . . .	371 l.	3,801 cbcm.
O_2-Verbrauch . . .	531,5 l.	5,503 cbcm.

Respiratorischer Quotient: 0,699.

Zu dem ersten der Versuche wählten wir Lävulose, da frühere Versuche gelehrt hatten, dass linksdrehende Kohlenhydrate in mässiger Menge verabreicht, erst wenn sie mehrere Tage hinter einander gegeben wurden, nennenswerthe Zuckerausscheidung bei unserem Kranken hervorriefen. Kam es doch vor Allem darauf an, dass der Kranke das gereichte Kohlenhydrat nicht unzersetzt im Urin wieder zur Ausscheidung brachte.

Er genügte dieser Bedingung auch vollständig; der Urin blieb trotz 200 gr. reiner (fast lufttrockener) Lävulose, die verabreicht wurden, zuckerfrei.

Die tägliche Nahrung des Kranken bestand zur Zeit des Versuchs in 350 gr. Fleisch, 200 gr. Käse, 50 gr. Butter, 120 gr. Salat mit 28 gr. Oel, 120 gr. Sauerkraut und 40 cbcm. Spiritus, also 140 gr. Eiweiss und 135 gr. Fett. Er vermochte mit dieser ca. 1800 Calorien entsprechenden Kost sich in Stickstoffgleichgewicht zu halten, ohne Zucker auszuscheiden.

An dem Versuchstag genoss er 150 gr. Fleisch, 200 gr. Käse, 120 gr. Salat mit 28 gr. Oel, 60 gr. Sauerkraut und 40 cbcm. Spiritus z. Th. vor dem Versuch, z. Th. während desselben, also 85 gr. Eiweiss und 65 gr. Fett, dazu 200 gr. Lävulose, sodass der Calorienwerth ungefähr der gleiche war, wie in den Tagen zuvor, jedoch 820 Cal. von Kohlenhydrat gedeckt wurden. Der wesentliche Unterschied der Nahrung gegenüber derjenigen bei den früheren Versuchen bestand, abgesehen von dem geringeren Gesammtverbrennungswerth darin, dass jetzt 20 % derselben von Eiweiss-, 45 % von Kohlenhydrat- und nur 35 % von Fett-Calorien bestritten wurden, während im Versuch I die Fettcalorien 86,5 % gedeckt hatten.

Die Erhöhung des resp. Quotienten, die man dementsprechend erwarten durfte, war indessen nicht bedeutend. Er betrug nur 0,699, obwohl der Kranke zu Beginn und in den ersten Stunden des (9stündigen) Versuches die 200 gr. Lävulose zu sich nahm und kein Kohlenhydrat unzersetzt im Urin wieder ausschied.

Bei Gesunden erfolgt bereits in den ersten Stunden nach Einnahme von Kohlenhydraten ein Ansteigen des resp.

Quotienten, der sich vorübergehend dem Werth 1 nähert. Bei reichlicher Kohlenhydrat-Aufnahme sahen Hanriot und Richet den resp. Quotienten vorübergehend sogar über 1 steigen. Die Kohlenhydrate treten also ausserordentlich rasch in die Circulation, werden bald oxydirt und die dadurch bedingte Vermehrung der Kohlensäure-Production klingt erst nach 4—6 Stunden ab.

Der resp. Quotient, der bei unserem 9stündigen Versuch als ein Mittelwerth gewonnen wurde, hätte also, wenn dabei analoge Vorgänge wie beim Gesunden bestanden hätten, durch die Lävulosezufuhr wohl stärker beeinflusst sein müssen.

Eine Erklärung dafür, dass dies nicht der Fall war, ist nur schwer zu geben. Vermehrte Ausscheidung von Aceton, Acetessigsäure und Oxybuttersäure konnte nicht festgestellt werden. Es bleibt also wiederum allein die Möglichkeit, dass das eingeführte Kohlenhydrat nicht zersetzt, sondern im Körper als Glykogen aufgespeichert wurde.

Der Gesammtverbrennungswerth der Nahrung war zwar erheblich geringer als in Versuch I, indessen immerhin noch ausreichend (28 Cal. pro Kgr.) und für absolute Körperruhe, wie sie während des Versuchstages beobachtet wurde, vielleicht sogar überreichlich.

Dass Glykogenbildung im Diabetes aus Lävulose statthaben kann, darf nicht bezweifelt werden und die Bedingungen für Glykogenansatz lagen bei unserem Kranken, der seit Monaten keine Kohlenhydrate mehr genossen hatte, jedenfalls besonders günstig.

Die Erscheinung, dass bei diesem wie bei anderen Diabetikern[1]) linksdrehendes Kohlenhydrat bei einmaliger Darreichung gut vertragen wurden, aber bei mehrtägiger Verabreichung stets Zuckerausscheidung hervorrief, die dann rasch

---

Die Toleranz unseres Kranken gegen linksdrehende Kohlenhydrate hat sich unterdessen sehr vermindert. Auf 100 gr. Lävulose schied er am 14. XI. 93 sofort 35 gr. Zucker aus und die Zuckerausscheidung hielt mehrere Tage an, obwohl der Kranke zuvor zuckerfrei gewesen war.

[1]) Socin. Wie verhalten sich Diabetiker Lävulose- und Milchzucker-Einfuhr gegenüber? Inaug.-Diss., Strassburg i. E., 1894.

anwuchs und die Lävulosedarreichung zeitlich lange überdauerte, liesse sich vielleicht so erklären, dass erst Sättigung des Organismus mit Glykogen zu erfolgen habe, ehe Zucker im Urin auftritt.

In einem weiteren Versuch wurden dem Kranken reichliche Mengen Amylum in Form von Brot gereicht, um den Einfluss auf den Gaswechsel, speziell auf den resp. Quotienten zu beobachten.

(Siehe hierzu Versuch V auf Seite 624.)

Die tägliche Kost war genau die gleiche gewesen, wie in Versuch IV. Am Versuchstag selbst genoss der Kranke unmittelbar vor Beginn des Versuches 150 gr. Fleisch, 100 gr. Käse, 60 gr. Sauerkraut, 50 gr. Butter, 20 cbcm. Spiritus und 100 gr. Brot[1]). In den ersten 5 Stunden des Versuches verzehrte er weitere 340 gr. Brot, sodass seine Nahrung aus 90 gr. Eiweiss, 86 gr. Fett und 314 gr. Kohlenhydrat (letzteres als Zucker berechnet) bestand und einen Calorien-Bruttowerth von 2457 Cal. hatte.

In Folge der reichlichen Kohlenhydratzufuhr entleerte der Kranke, dessen Urin bis dahin dauernd zuckerfrei gewesen war und nie mehr als 12—1300 cbcm. pro Tag betragen hatte, bereits in den 9 Stunden des Versuches 1850 cbcm. Urin mit 5,5 °/₀ Zucker und am Abend nach Beendigung des Versuches noch 435 cbcm. mit 5,2 °/₀ Zucker, also fast 125 gr. Zucker in 2285 cbcm. Urin, ohne dass er an dem Tage mehr Flüssigkeit als sonst zu sich genommen hätte[2]).

---

[1]) Das Brod enthielt 61 °/₀ Stärke, 3,7 °/₀ lösl. Kohlenhydrat, 31,65 °/₀ Wasser.

[2]) Der Versuch lässt, worauf nur nebenbei hingewiesen sei, die diuretische Wirkung der Kohlenhydrate beim Diabetiker evident hervortreten. Die 24stünd. Urinmenge betrug am Versuchstag 2635 cbcm. (sonst höchstens 1300). Sie enthielt 23,7 gr. N, während in der Nahrung an dem betr. Tage nur ca. 16 gr. N enthalten waren und der Kranke an den vorausgegangenen Tagen (mit 22,5 gr. Nahrungs-Stickstoff) nur 20,8 gr. N durchschnittlich in 24 Stunden ausgeschieden hatte. Es trat also durch die Kohlenhydratzulage nicht nur keine Eiweisssparung, sondern eine Störung des N-Gleichgewichts ein.

5. Versuch am Diabetiker.

	Zeit und Dauer.	Gewicht der Versuchsperson.	Temperatur im Apparate.	Barometerstand (corrigirt).	CO_2-Bestimmung.				O_2-Bestimmung.		
					Menge der Kalilauge und Procentgehalt an CO_2.	Menge der CO_2 in der Kalilauge.	CO_2-Gehalt der Luft des Apparates.		O_2-Gehalt der Luft des Apparates.		Menge des zugeleiteten O_2.
							in 1 l.	in 4840 l.	Reduc. Luftvolum mit % O_2.	Menge des O_2.	
Zu Beginn des Versuches:	29. VII. 93 9.35 Uhr Vorm.	64,9 Kgr.	19,3° C.	751,1 mm.	17,8 l. mit 4,91 % CO_2.	874,0 gr.	0,593 cbcm.	28,65	4390,5 l. mit 20,92 % O_2.	920,7 l.	143,6 l. mit 91,8 % O_2. $= \frac{143{,}6 \,.\, 91{,}8\,(751{,}6-15{,}3)}{100 \,.\, 760\,(1+0{,}003665 \,.\, 18)} =$
Am Schluss des Versuches:	29. VII. 93 6.35 Uhr Vorm.	63,5 Kgr.	20,3° C.	751,6 mm.	17,9 l. mit 5,994 % CO_2.	1073,0 gr.	9,0 cbcm.	43,56	4358,5 l. mit 19,52 % O_2.	850,7 l.	
Dauer: 9 Stunden.					Zunahme an 199,0 gr. CO_2: = 101,4 l. + 40,7 l. = 142,1 l. CO_2.				Verbrauch an O_2: 70,0 l. + 120,7 l. O_2. = 190,7 l. O_2.		

	In 24 Stunden.	Pro Kgr. und Minute.
CO_2-Production . . .	378,8 l.	4,109 cbcm.
O_2-Verbrauch . . .	509,0 l.	5,53 cbcm.

Respiratorischer Quotient: 0,742.

Der am nächsten Morgen entleerte Urin enthielt nur Spuren reducirender Substanz und weiterhin war der Urin des Kranken wieder zuckerfrei wie vor dem Versuch.

Von den 314 gr. in dem Brot gereichten Kohlenhydrat verliessen also 125 gr. den Körper unzersetzt, ohne verbrannt zu werden. Nur der Rest von fast 200 gr. konnte für den Kraftwechsel in Betracht kommen und die Verhältnisse des Gaswechsels beeinflussen.

Diese Menge genügt, um beim Gesunden während der Verdauungszeit, also in den ersten Stunden nach der Aufnahme, den resp. Quotienten weit über den Nüchternwerth zu erheben und längere Zeit der Einheit zu nähern. In unserem Versuch trat auch eine Steigerung desselben ein, doch blieb dieselbe erheblich zurück hinter derjenigen, die eine gleiche Kohlenhydratmenge beim Gesunden hervorgerufen hätte.

Es liegt darum wiederum nahe, dass diese aufgenommene und im Urin nicht zur Ausscheidung gekommene Zuckermenge nur zum Theil oxydirt wurde, zum anderen Theil aber unzersetzt in Form von Glykogen zur Ablagerung kam.

Jedenfalls gibt die Steigerung des resp. Quotienten zu erkennen, dass Kohlenhydrat in diesem Versuch an dem Stoffumsatz des Organismus betheiligt war, da ein gleich hoher Werth bei reiner Eiweiss-Fett-Kost nie errreicht worden war. Sie zeigt aber auch, dass die Fähigkeit des Organismus, in die Circulation gerathene Kohlenhydratmoleküle zu oxydiren, doch viel geringer war, als man aus der Quantität des im Körper verwendeten, nicht unzersetzt im Urin wieder ausgeschiedenen Kohlenhydrats (200 gr.) hätte vermuthen sollen.

Nicht die Kohlenhydratmenge, um welche die Nahrung den Urin übertrifft, sondern die Steigerung der Kohlensäureproduction durch sie muss als das Maass der zuckerconsumirenden Kraft des Organismus angesehen werden (wenigstens in so kurz

Bei einem gesunden Individuum stieg in 2 von uns angestellten Versuchen von je 8 Stunden Dauer der respiratorische Quotient auf 0,88 resp. 0,91, als dasselbe bei gemischter Kost 210 gr. Brot (resp. 290 gr.) während des Versuches genoss.

dauernden Versuchen), da ein Theil des eingeführten Kohlenhydrats im Organismus zurück gehalten sein kann.

Bei länger dauernder Verabreichung von Kohlenhydraten wird das Maximum der dem Diabetiker möglichen Glykogenablagerung bald erreicht sein und dann dürfte die Differenz zwischen Nahrungs- und Harn-Zucker allerdings zum Maassstab für die zuckerconsumirende Kraft des Organismus werden.

Nur so wird es verständlich, wie unser Kranker, bei dem früher selbst bei vollständiger Kohlenhydratentziehung nur durch starke Einschränkung des Eiweisses im Kostmaass der Zucker aus dem Urin zum Schwinden gebracht werden konnte, jetzt 200 gr. Zucker hatte verbrauchen (zu Kohlensäure und Wasser verbrennen) können. Voraussichtlich wäre bei weiterer Verabreichung von Kohlenhydraten mit der allmälig eintretenden Sättigung des Organismus mit Glykogen die Differenz zwischen dem eingeführten und dem im Urin ausgeschiedenen Zucker rasch kleiner geworden und die Zuckerausscheidung hätte schliesslich den Kohlenhydratgehalt der Nahrung wieder erreicht und überstiegen.

Die Ergebnisse unserer Gaswechselversuche haben also gezeigt:

1. Dass auch der mit schwerem Diabetes behaftete Kranke ebensoviel Sauerstoff aufzunehmen im Stande ist, wie ein Gesunder, wenn ihm ausreichende Nahrung in für ihn verwerthbarem Nahrungsmaterial (Eiweiss und Fett) gereicht wird.
2. Dass der resp. Quotient (dem zur Verbrennung gelangenden Nahrungs-Material entsprechend) dem Nüchtern- und Hungerwerth des Gesunden ungefähr gleichkommt, sogar geringer ist als dieser.
3. Dass einmalige Zufuhr von Kohlenhydrat, auch wenn sie keine entsprechende Zuckerausscheidung im Urin hervorgerufen, Vermehrung der Kohlensäureproduction und Steigerung des resp. Quotienten nicht in dem Umfang wie beim Gesunden zur Folge hatte.

Im Wesentlichen stimmen diese Resultate mit denen Leo's gut überein und entsprechen der nach der Analyse der festen Ausscheidungen im Diabetes berechtigten Voraussetzung, dass auch der Gaswechsel beim zuckerfreien Diabetiker nicht erheblich von der Norm ahweiche.

Bei den beiden schweren Diabetikern, deren Gaswechsel Leo untersuchte, schwankte der resp. Quotient zwischen 0,67—0,83 in dem einen und zwischen 0,66—0,71 in dem zweiten (schwereren) Fall. Nahrungsaufnahme hatte in dem ersten Fall gar keine, in dem zweiten nur eine ganz unbedeutende Erhöhung des resp. Quotienten vorübergehend zur Folge. Wenn Leo dennoch darauf verweisend sagt, die Betrachtung des resp. Quotienten zeige, dass auch bei den schwereren Formen des Diabetes ein Theil des aufgenommenen resp. im Körper gebildeten Zuckers durch Oxydation im Organismus verwerthet werde, so muss man dagegen betonen, dass diese durch Analyse der festen Ausscheidungen längst ausser allen Zweifel gestellte Thatsache in den Ergebnissen seiner Versuche kaum hervorgetreten ist. Die Erhöhung des resp. Quotienten durch Kohlenhydratnahrung tritt bei Leo nur in einem Versuch deutlich hervor und bleibt auch hier weit zurück hinter der Steigerung, die beim Gesunden in der entsprechenden Zeit erfolgen würde. In allen übrigen Versuchen blieb sie ganz aus; zuweilen sank der resp. Quotient nach Kohlenhydratverabreichung sogar unter den Nüchternwerth.

Die Geringfügigkeit der Steigerung des resp. Quotienten in unseren beiden Versuchen zeigt, dass bei unserem Kranken die Fähigkeit, Zucker im Organismus zu verwerthen (zu verbrennen), entsprechend der Schwere seines Diabetes recht gering war, obwohl durch vorausgegangene monatelang beobachtete strenge Diät seine zuckerconsumirende Kraft zur Zeit der Versuche schon wieder erheblich zugenommen hatte[1]).

Physiol.-chemisches Institut Strassburg i. E.

---

[1]) Während er früher bei kohlehydratfreier Kost und Beschränkung des Eiweisses auf 85 gr. gr. nicht zuckerfrei geworden war, vertrug er jetzt 140 gr. Eiweiss, ohne Zucker auszuscheiden.

Zusammenstellung der Resultate der Respirationsversuche mit dem Diabetiker.

Name der Versuchsperson.	Nr.	Zeit.	Dauer.	Procentgehalt der Luft des Apparates (am Schluss des Versuchs) an:		CO_2-Production.		O_2-Verbrauch.		Respiratorischer Quotient.	Bemerkungen.
				Sauerstoff.	Kohlensäure.	In 24 Stunden.	Pro Kgr und Minute.	In 24 Stunden	Pro Kgr. und Minute.		
	I.	1. VII. 93. Von 10.15 U. Vorm. bis 7.56 U. Nachm.	9 St. 41 M.	19,15 %	0,69445%	408 l.	4,425 cbcm.	582,4 l.	6,23 cbcm	0,7	
	II.	6. VII. 93. Von 10.15 U. Vorm. bis 7.52 U. Nachm.	9 St. 37 M.	19,8 %	0,6563%	349,7 l.	3,795 cbcm.	568 l.	6,164 cbcm.	0,617	
	III.	14./15. VII. 93. Von 9.48 U. Abends bis 7.13 U. Morgens.	9 St. 25 M.	20,62 %	0,7085%	339 l.	3,65 cbcm.	528,3 l.	5,744 cbcm.	0,64	
	IV.	24. VII. 93. Von 10.15 U. Vorm. bis 7.15 U. Abends.	9 St.	20,59 %	0,7489%	371 l.	3,901 cbcm.	531,5 l.	5,593 cbcm.	0,699	200 gr. Lävulose.
	V.	29. VII. 93. Von 9.35 U. Vorm. bis 6.35 U. Nachm.	9 St.	19,52 %	0,9%	378,8 l.	4,109 cbcm.	509 l.	5,53 cbcm.	0,742	440 gr. Brot.

Ueber den respiratorischen Stoffwechsel eines diabetischen Hundes nach Pankreas-Exstirpation.

Von

Dr. W. Weintraud, ehemal. Assistenten an der medic. Klinik und **Dr. E. Laves,** Assistenten am physiol.-chem. Institut der Universität Strassburg i. E.

(Der Redaction zugegangen am 6. Juni 1894.)

Die Beobachtung Minkowski's[1]), dass bei diabetischen Hunden nach Pankreas-Exstirpation linksdrehende Kohlenhydrate noch Glykogenansatz hervorrufen, während Dextrose-Fütterung bei denselben keine Glykogen-Ablagerung zur Folge hat, ist geeignet, für die in klinischen Beobachtungen schon lange hervorgetretene Verschiedenheit im Verhalten linksdrehender und rechtsdrehender Kohlenhydrate im diabetischen Organismus eine Erklärung abzugeben.

Die Annahme ist naheliegend, dass die Toleranz des Diabetikers für linksdrehende Kohlenhydrate in Zusammenhang stehe mit seiner Fähigkeit, aus solchem Glykogen zu bilden, namentlich für diejenigen, welche eine unzureichende Glykogenbildung aus Dextrose für die Ursache der Glykosurie beim Zuckerkranken halten.

Die Frage, ob im normalen Organismus das Kohlenhydrat-Molekül, ehe es in seine Stoffwechsel-Endprodukte übergeführt wird, eine Umbildung in Glykogen erleiden muss, ist noch nicht entschieden. Die Schnelligkeit und Vollständigkeit, mit der grosse Kohlenhydratmengen im Organismus verbrennen, sprechen nicht dafür, dass Glykogen als ein nicht zu umgehendes Zwischenprodukt des Kohlenhydrat-Stoffwechsels immer erst aus dem in Circulation gerathenen Zucker vor dessen Oxydation entsteht. Eine definitive Lösung dieser für unsere Kenntniss des physiolog. Abbau's des Kohlenhydrat-Moleküls so wichtigen Frage ist jedoch noch nicht gegeben.

---

[1]) Minkowski, Untersuchungen über den Diabetes mellitus nach Pankreas-Exstirpation, Arch. f. exp. Path., Bd. XXXI, S. 85ff.

In gleicher Weise schwierig zu entscheiden ist die Frage, ob im diabetischen Organismus die Fähigkeit der Consumirung linksdrehenden Zuckers, mit anderen Worten, das Ausbleiben der Glykosurie nach Verabreichung von Lävulose, auf dem erhaltenen Vermögen der Gewebe, linksdrehende Kohlenhydrate zu verbrennen, beruht, oder ob sie, wie oben angedeutet, mit der Fähigkeit der Leberzellen aus linksdrehendem Kohlenhydrat noch Glykogen zu bilden, in Zusammenhang gebracht werden muss.

Die Untersuchung der gasförmigen Ausscheidungen scheint am ehesten geeignet, einiges Licht auf diese noch ganz dunkeln Gebiete des intermediären Stoffwechsels zu werfen, doch bedarf es bei der complicirten Fragestellung ganz besonders günstiger Versuchsbedingungen, wenn eindeutige Schlüsse aus den Untersuchungsergebnissen gezogen werden sollen.

Im gesunden Organismus, der sich in Stoffwechselgleichgewicht befindet, wird eine bestimmte Menge verabreichten Kohlenhydrates (rechtsdrehenden wie linksdrehenden) einen Glykogen-Ansatz und ein bedeutendes Ansteigen des resp. Quotienten in Folge starker Zunahme der Kohlensäureproduktion bewirken.

Beim Diabetiker erfolgt auf die Verabreichung von rechtsdrehendem Kohlenhydrat (oder von Amylum, das zu rechtsdrehendem Zucker im Organismus wird), eine Steigerung der Glykosurie, die um so erheblicher ist, je schwerer der Fall. In den schwersten Fällen wird fast die ganze verabreichte Zuckermenge im Urin wieder ausgeschieden; sie kann also weder Glykogen-Ansatz noch Steigerung der CO_2-Produktion hervorrufen.

L i n k s d r e h e n d e Kohlenhydrate, dem Diabetiker vorübergehend verabreicht, steigern die Zuckerausscheidung nur unerheblich; der Rest, der nicht als Dextrose im Urin erscheint, kann sowohl als Glykogen im Organismus abgelagert, wie auch zu Kohlensäure und Wasser verbrannt worden sein. Die Bestimmung der resp. Stoffwechselprodukte muss den Umfang der beiden Vorgänge und ihren zeitlichen Verlauf bis zu einem gewissen Grade erkennen lassen.

Freilich schliesst das Anwachsen der CO_2-Produktion nach Lävulose-Fütterung, das die Verbrennung von Kohlenhydratmolekülen im Organismus anzeigt, nicht aus, dass das verbrannte Kohlenhydratmolekül vor seiner Oxydation in Glykogen übergeführt war; aber das Ausbleiben einer entsprechenden Steigerung des resp. Quotienten muss anzeigen, ob Glykogen-Ansatz stattgefunden hat und in welchem Umfang dadurch Kohlenhydrat der (vollständigen) Oxydation entzogen worden ist.

Von solchen Erwägungen gingen wir aus, als wir den Einfluss rechtsdrehender und linksdrehender Kohlenhydrate auf den resp. Stoffwechsel im Diabetes untersuchten.

Zwei in vorstehender Arbeit mitgetheilte Versuche an einem Diabetiker hatten eindeutige Resultate nicht ergeben, einmal weil bei der Versuchsperson an dem Versuchstag durch die Kohlenhydratzulage offenbar Uebererernährung eintrat, dann aber auch, weil die diabetische Functionsstörung bei dem Kranken z. Zt. der Versuche nicht in dem hohen Grade vorhanden war, wie es zur Entscheidung unserer Fragen nothwendig schien.

Ist doch die Fähigkeit, den mit der Nahrung eingeführten und den im Organismus entstandenen Zucker zu verbrennen, selbst in den schwersten Fällen menschlichen Diabetes nicht vollständig verschwunden, sondern nur geschwächt. Bei unserem Kranken aber war z. Zt. der Versuche diese Fähigkeit schon wieder derart erstarkt, dass er nicht nur reichlichere Eiweisszufuhr ohne Zuckerausscheidung ertrug, sondern, wie die Versuche bewiesen, auch einen Theil der eingeführten Kohlenhydrate verbrannte.

Wir sahen uns desshalb veranlasst, die Versuche an einem durch Pankreas-Exstirpation diabetisch gemachten Hunde zu wiederholen. Wenn solche Hunde auch, wie Minkowski zeigte, den denkbar höchsten Grad der diabetischen Functionsstörung ebenfalls nicht aufweisen, d. h. bei reiner Fleischfütterung nicht entsprechend der ganzen im Eiweiss nach Abzug des Harnstoff-Kohlenstoffs zur Verfügung stehenden Kohlenstoffmenge Traubenzucker ausscheiden, so übertrifft der experimentelle Diabetes doch die schwersten Fälle beim Menschen an Intensität erheblich. Die Thiere scheiden auch bei reiner Fleischnahrung dauernd bedeutende Zuckermengen

aus und rechtsdrehende Kohlenhydrate erscheinen in der ganzen verabreichten Menge im Urin wieder. Glykogenansatz hat bei Fütterung mit rechtsdrehendem Kohlenhydrat bei ihnen überhaupt nicht mehr statt. Die den diabetischen Hunden eigenthümliche Störung der Fettresorption, ihre vollständige Unfähigkeit, rechtsdrehende Kohlenhydrate zu verwerthen und endlich die Constanz des Verhältnisses, indem sie aus dem eingeführten Eiweiss Zucker produciren, dies Alles lässt erwarten, dass auch die Verhältnisse des Gaswechsels nach Pankreas-Exstirpation bei Hunden in ganz bestimmter Weise modificirt sein müssen.

Aus dem resp. Quotienten wird man auf die Zusammensetzung des Nahrungsmoleküls, aus dem das diabetische Thier für seinen Kraftwechsel Energie schöpft, schliessen dürfen.

Theoretisch kann man durch nachfolgende Berechnung dasselbe sich zur Anschauung bringen:

Fett kommt für den Kraftwechsel des diabet. Hundes nicht in Betracht, weil es nicht resorbirt wird, Kohlenhydrat ebenfalls nicht, weil es nicht oxydirt wird. Allein aus dem Eiweissmoleküle schöpft der Organismus Energie.

	C	H	N	O
100 gr. Eiweiss =	54,1 gr. C;	7,3 gr. H;	16,1 gr. N;	21,5 gr. O_2.
34,5 gr. Harnstoff =	6,9 gr. C;	2,3 gr. H;	16,1 gr. N;	9,2 gr. O_2.
	47,2 gr. C;	5,0 gr. H;	—	12,3 gr. O_2 + 11,74 gr. O_2.
45,08 gr. Zucker =	18,03 gr. C;	3,0 gr. H;	—	24,04 gr. O_2.
	28,17 gr. C;	2,0 gr. H;	—	—

Zieht man von diesem die zur Harnstoffbildung nöthigen Bestandtheile ab, so bedarf der Rest bereits einer Sauerstoff-Aufnahme zur Bildung derjenigen Zuckermenge, die erfahrungsgemäss die diabet. Thiere auf der Höhe der Krankheit aus Eiweiss bilden (N : D = 1 : 2,8).

Nach Abzug des Zuckers bleiben dann von 100 gr. Eiweiss noch 28,17 gr. C und 2 gr. H, die unter weiterer Aufnahme von O_2 zu Kohlensäure und Wasser sich oxydiren können und die einzige Wärmequelle für den Organismus darstellen. Im Ganzen müssen dabei 102,86 gr. Sauerstoff aufgenommen werden und es entstehen 103,29 gr. Kohlensäure, sodass das Verhältniss der Volumina beider 0,740 (Resp. Quotient) beträgt.

Den gleichen Werth darf man beim Gaswechselversuch am Thier im Diabetes nach Pancreas-Exstirpation erwarten.

Die Versuche wurden mittelst eines Apparates angestellt, der im Wesentlichen dem von Regnault und Reiset[1]) angegebenen nachgebildet ist. Zur vollständigen Absorption der Kohlensäure wird die Luft zweimal durch Kalilauge hindurchgeleitet, statt nur an die Oberfläche derselben gebracht zu werden (siehe Hoppe-Seyler, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XIX, Seite 478, Abbildung).

Leider war die zur Aufnahme des Versuchsthieres dienende Glocke bei dem uns zur Verfügung stehenden Apparat für unseren Hund etwas zu klein und es war unmöglich, eine ausreichende Ergänzung des aus der Athemluft verbrauchten Sauerstoffs zu bewerkstelligen, da die Entfernung der Kohlensäure aus der Athemluft bei der vorhandenen Ventilations-Anlage nicht in gewünschtem Umfange vor sich ging.

Nachdem am Schluss der beiden ersten je 5 stünd. Versuche eine sehr bedeutende Abnahme des O_2-Gehaltes der Respirationsluft constatirt worden war, wurden in der Folge die Versuchszeit auf etwa 2 Stunden abgekürzt; doch konnte der Missstand dadurch nur eingeschränkt, nicht ganz beseitigt werden.

Der Einwand, dass der Gasaustausch in unseren Versuchen dadurch beeinflusst worden sei und dass die Versuchsergebnisse desshalb nicht verwerthbar seien, kann natürlich erhoben werden. Indessen auch in den klassischen Experimenten Regnault's und Reiset's war der O_2-Gehalt der Athemluft am Ende des Versuchs oft auf gleich niedrige Werthe gesunken und die Ergebnisse dieser Versuche haben in den wesentlichen Punkten (abgesehen von der N-Ausscheidung) bis heute durch keine Nachprüfung widerlegt werden können.

Wir glauben darum von der Veröffentlichung der Resultate unserer Versuche um so weniger abstehen zu sollen, da gerade in denjenigen Versuchen, deren Ergebnisse wir allein verwerthen wollen, der erwähnte Missstand am wenigsten sich geltend machte und weil er in den betreffenden Versuchen un-

---

[1]) Regnault et Reiset. Recherches chimiques sur la Respiration des animaux. Paris 1849.

gefähr in gleichem Masse hervortrat, sodass eine Vergleichung der Endresultate, auf die es allein ankommt, wohl möglich ist.

Einem kleinen Hund von ca. 4—5 Kgr. Gewicht war am 17. IX. 93 nach der von Minkowski angegebenen Methode ein Theil des Pankreas unter die Bauchhaut transplantirt worden. Dasselbe heilte rasch ein und entleerte durch eine angelegte Fistel wirksamen Pankreassaft. Am 16. XII. 93 wurde der noch im Abdomen befindliche Rest des Pankreas exstirpirt. In Folge der Eiterung einiger Stichkanäle schloss sich die Laparotomiewunde nur langsam und das Thier magerte jetzt etwas ab. Auch versiegte allmälig die Secretion des verlagerten Pankreasstückes.

Nachdem die Wunde völlig geschlossen und trotz zunehmender Atrophie des transplantirten Pankreasstückes bei der gewöhnlichen Fleischnahrung des Thieres nie Zucker im Urin desselben aufgetreten war, wurden am 26. I. 94 die Respirationsversuche begonnen.

Zunächst wurden in 4 Versuchen (I—IV), deren Ergebniss in nachstehender Tabelle I wiedergegeben ist, die uns interessirenden Verhältnisse des Gaswechsels bei dem Versuchsthier, so lange es noch nicht diabetisch war, festgestellt.

Sauerstoff-Aufnahme und Kohlensäure-Produktion hatten in normalem Umfang statt. Der resp. Quotient betrug bei gemischter Kost 0,87 und stieg nach Verabreichung von linksdrehendem Kohlenhydrat auf 0,98 und 0,93 an. Mit rechtsdrehendem Zucker wurde kein Versuch gemacht, da der Einfluss desselben auf den resp. Stoffwechsel ja hinreichend studirt ist.

Am 1. II. 94 wurde dann das stark atrophische transplantirte Pankreasstück entfernt. Die Operation war in wenigen Minuten beendet, die kleine Wunde wurde mit Collodium verschlossen. Das entfernte Drüsenstück hatte kaum die Grösse einer Bohne. Trotzdem hatte es genügt, um den Eintritt des Diabetes zu verhüten.

Bereits am anderen Morgen nach seiner Entfernung enthielt der Harn des Hundes, der jetzt bei absoluter Fleischkost gehalten wurde, 1 % Zucker, am Morgen des 3. II. entleerte der Hund Urin, in dem 4,6 % Zucker und 1,63 % Stickstoff enthalten waren (N : D = 1 : 2,8). Da dies Verhältniss der Zahl entspricht, die den gewöhnlichen Grad der diabetischen Functionsstörung bei

Hunden nach Pankreas-Exstirpation (Minkowski) angibt, so wurden jetzt die Gaswechselversuche wieder aufgenommen.

Vor dem zweiten Versuch (VI.) hatte der Hund 40 gr. Rohrzucker in 120 cbcm. Milch erhalten, damit der Einfluss von Kohlenhydratzulage zur Fleischkost festgestellt werde. Eine Steigerung der resp. Quotienten, wie sie früher, bevor das Thier diabetisch war, sich gezeigt hatte, war jetzt nicht zu bemerken.

Am 4. II. Nachmittags wurde, nachdem das Thier Morgens gemischte Nahrung (Fleisch, Fett und Amylum, keinen Zucker) erhalten hatte, wieder ein 2stündiger Versuch (VII.) gemacht, dem nach 1 Stunde ein weiterer folgte (VIII.), nachdem zuvor das Versuchsthier 40 gr. Glykose (in Wasser gelöst), getrunken hatte.

Schliesslich folgte am 5. II. noch ein letzter Versuch (IX.) nach Verabreichung von 20 gr. Lävulose. Leider konnten aus äusseren Gründen weitere Versuche an dem Thiere nicht angestellt werden. Dasselbe verendete am 16. II., nachdem noch 8 Tage lang sein Diabetes in gleicher Intensität fortgedauert und erst in den letzten beiden Tagen die Glykosurie abgenommen hatte.

Die Tabelle I, welche auch die Ergebnisse dieser Versuche enthält, lässt erkennen, dass die Werthe für Sauerstoff-Aufnahme und CO_2-Production des diabetischen Thieres nicht wesentlich differiren von den vor der Pankreas-Exstirpation erhaltenen. Im Mittel aus 4 Versuchen verbrauchte das Thier, so lange es gesund war, pro Min. und Kgr. Körpergewicht 13,35 cbcm. O_2 und exhalirte 12,35 cbcm. CO_2, und nachdem es diabetisch geworden war, 13,41 cbcm. O_2 und 12,24 cbcm. CO_2. Diese Mittelwerthe entsprechen fast genau denjenigen, die auch Regnault und Reiset für kleine Hunde gefunden hatten (S. 130). Die Zahlen für die producirte CO_2-Menge stimmen auch in den einzelnen Versuchen gut mit einander überein, die aufgenommenen Sauerstoffmengen schwanken innerhalb etwas weiterer Grenzen. Wenn unmittelbar vor dem Versuch Nahrungsaufnahme stattgefunden hatte, findet sich, und zwar der Menge der eingeführten Kohlenhydrate ungefähr entsprechend, Steigerung der Sauerstoff-Aufnahme.

Das Verhalten des respiratorischen Quotienten nimmt das Hauptinteresse in Anspruch. Derselbe sinkt nicht, wie

man der Berechnung nach hätte erwarten dürfen, sondern hat fast genau den gleichen Werth (0,89) wie früher (0,87).

Verabreichung von Traubenzucker vermag indessen nicht mehr, wie beim gesunden Thier, eine Steigerung des resp. Quotienten zu bewirken. Nach 40 gr. Dextrose betrug er nur 0,84. Dagegen steigt er nach Verabreichung von Lävulose genau, wie vor der Pankreas-Exstirpation, prompt an und erreicht, wie beim gesunden Thier, den Werth 1. Auch am Gaswechsel ist somit zu erkennen, dass der linksdrehende Zucker verbrannt wird, während der rechtsdrehende den Organismus unzersetzt wieder vorlässt.

Die Frage, ob der linksdrehende Zucker vor seiner Verbrennung in Glykogen umgewandelt worden war, ist damit noch nicht entschieden. Die relative Zunahme der Kohlensäure-Ausscheidung nach der Lävulose-Einfuhr kann entweder durch directe Oxydation derselben in den Geweben oder durch Verbrennung des aus ihr gebildeten Glykogens zu Stande kommen. Ueber anderes Material zur Bildung der Kohlensäure (Glykogen-Vorrath) verfügt das diabetische Thier nicht. Ob der eine oder andere Modus beim Abbau des linksdrehenden Kohlenhydrat-Moleküls im Diabetes statt hat, wird sich nur durch ununterbrochene Serien von Bestimmungen des resp. Quotienten nach Lävulose-Einfuhr entscheiden lassen, nachdem durch andere Versuche erst der zeitliche Verlauf der Glykogen-Ablagerung nach Darreichung linksdrehenden Zuckers studirt ist.

Bei Ausführung der Versuche wurde das Sauerstoffgas aus einem calibrirten und äquilibrirten Glasgasometer zugeleitet.

Der Kohlensäuregehalt der Luft wurde bei Beginn nach Pettenkofer's Titrirungsmethode, am Schluss der Versuche zugleich mit der Sauerstoffbestimmung durch Absorption vermittelst Natronlauge festgestellt.

Von der Berücksichtigung der Ergebnisse des Versuches Nr. V, bei dem, vielleicht in Folge von Undichtigkeit des Verschlusses, auffallend niedrige absolute Werthe erhalten wurden, wird besser abgesehen werden.

Auch die Consumptionsfähigkeit für linksdrehenden Zucker war bei dem Versuchsthier geschwächt und dies schon vor der Pankreas-Exstirpation. Nach der Lävulosefütterung (Versuch II und III) enthielt sein Urin jedesmal reichlich Lävulose; nach den 20 gr. Lävulose in Versuch IX enthielt der Urin neben der reichlichen Dextrose nur Spuren linksdrehenden Zuckers.

Zusammenstellung der Resultate der mit dem Hunde angestellten Respirationsversuche.

Gewicht des Hundes.	Nr.	Zeit.	Dauer.	Procentgehalt der Luft des Apparates am Schluss des Versuchs an:		CO_2-Production.		O_2-Verbrauch.		Respiratorischer Quotient.	Bemerkungen.
				O_2.	CO_2.	In 24 Stunden.	Pro Kgr. und Minute.	In 24 Stunden.	Pro Kgr. und Minute.		
3,4 Kgr.	I.	26. I. 94 Nachm.	4 St. 55 M.	9,75 %	2,2 %	51,93 l.	10,75 cbcm.	59,55 l.	12,34 cbcm.	0,87	—
3,48 Kgr.	II.	28. I. 94 Nachm.	4 St. 45 M.	8,6 %	2,25 %	71,75 l.	14,04 cbcm.	72,62 l.	14,21 cbcm.	0,988	Lävulose 50 gr.
3,565 Kgr.	III.	31. I. 94 Nachm.	2 St. 11 M.	13,6 %	2,4 %	64,01 l.	12,47 cbcm.	68,53 l.	13,35 cbcm.	0,9341	Lävulose 20 gr.
3,555 Kgr.	IV.	31. I. 94 Nachm.	2 St.	13,5 %	1,93 %	62,088 l.	12,13 cbcm.	69,228 l.	13,52 cbcm.	0,8968	—
2,948 Kgr.	V.	3. II. 94 Nachm.	1 St. 55 M.	13,8 %	1,18 %	36,66 l.	8,622 cbcm.	34,764 l.	8,506 cbcm.	1,05	—
2,93 Kgr.	VI.	3. II. 94 Nachm.	1 St. 31 M.	10,7 %	5,0 %	53,444 l.	12,61 cbcm.	65,405 l.	15,41 cbcm.	0,82	Rohzucker 40 gr.
3,19 Kgr.	VII.	4. II. 94 Nachm.	2 St.	10,85 %	1,87 %	53,148 l.	11,57 cbcm.	59,1 l.	12,87 cbcm.	0,8993	Nihil.
3,188 Kgr.	VIII.	4. II. 94 Nachm.	1 St. 57 M.	15,2 %	1,86 %	55,408 l.	12,1 cbcm.	65,909 l.	14,35 cbcm.	0,843	Dextrose 40 gr.
3,19 Kgr.	IX.	5. II. 94 Nachm.	2 St. 4 M.	12,1 %	2,16 %	59,616 l.	12,68 cbcm.	55,2384 l.	12,03 cbcm.	1,054	Lävulose 20 gr.

1. Versuch am Hunde:

	Zeit und Dauer.	Gewicht des Hundes.	Temperatur in der Glocke.	Barometerstand (corrigirt).	CO_2-Bestimmung. Menge der Kalilauge und Procentgehalt an CO_2.	CO_2-Bestimmung. Menge der CO_2 in der Kalilauge.	CO_2-Bestimmung. CO_2-Gehalt der Luft des Apparates. in 1 l.	CO_2-Bestimmung. CO_2-Gehalt der Luft des Apparates. in 10,86 l.	O_2-Bestimmung. O_2-Gehalt der Luft des Apparates. Reduc. Luftvolum mit % O_2.	O_2-Bestimmung. O_2-Gehalt der Luft des Apparates. Menge des O_2.	O_2-Bestimmung. Menge des zugeleiteten O_2.
Zu Beginn des Versuches:	26. I. 94 4.5 Uhr Nachm.	3,425 Kgr.	15° C.	748 mm.	600 cbcm. mit 0,63 % CO_2.	3,781 gr.	0,7 cbcm.	0,0076 l.	11,64 l. mit 20,92 % O_2.	2,436 l.	12,552 l. mit 94,5 % O_2 $= \frac{12,55 . 94,5 (750,0-12,6)}{100 . 760(1+0,003665 . 15)} =$
Am Schluss des Versuches:	26. I. 94 9 Uhr Abends.	3,28 Kgr.	15° C.	752,5 mm.	615 cbcm. mit 3,9286 % CO_2.	24,161 gr.	22,0 cbcm.	0,2376 l.	11,69 l. mit 9,75 % O_2.	1,139 l.	
Dauer 4 Stunden 55 Min.					Zunahme an 20,38 gr. CO_2: = 10,4 l. + 0,23 l. = 10,63 l. CO_2.				Verbrauch an O_2: 1,297 l. + 10,906 l. O_2. = 12,203 l. O_2.		

	In 24 Stunden.	Pro Kgr. und Minute.
CO_2-Production . . .	51,93 l.	10,75 cbcm.
O_2-Verbrauch	59,55 l.	12,34 cbcm.

Respiratorischer Quotient: 0,87.

2. Versuch am Hunde.

	Zeit und Dauer.	Gewicht des Hundes.	Temperatur in der Glocke.	Barometerstand (corrigirt).	CO_2-Bestimmung. Menge der Kalilauge und Procentgehalt an CO_2.	Menge der CO_2 in der Kalilauge.	CO_2-Gehalt der Luft des Apparates. in 1 l.	in 11 l.	O_2-Bestimmung. O_2-Gehalt der Luft des Apparates. Reduc. Luftvolum mit % O_2.	Menge des O_2.	Menge des zugeleiteten O_2.
Zu Beginn des Versuches:	28. I. 94 2.23 Uhr Nachm.	3,55 Kgr.	15° C.	748,7 mm.	600 cbcm. mit 0,6288 % CO_2.	3,773 gr.	0,63 cbcm.	0,007 l.	11,66 l. mit 20,92 % O_2.	2,433 l.	14,894 l. mit 94,5 % O_2. $= \frac{14{,}894 . 94{,}5\ (749.0-12{,}6)}{100.760(1+0{,}003665.15)} =$
Am Schluss des Versuches:	28. I. 94 7.12 Uhr Abends.	3,4 Kgr.	15° C.	748,7 mm.	615 cbcm. mit 5,14 % CO_2.	31,603 gr.	22,5 cbcm.	0,247 l.	11,66 l. mit 8,6 % O_2.	0,79 l.	
Dauer: 4 Stunden 45 Min.					Zunahme an 27,83 gr. CO_2: = 14,16 l. + 0,24 l. = 14,4 l. CO_2.				Verbrauch an O_2: 1,643 l. + 12,93 l. O_2. = 14,573 l. O_2.		

	In 24 Stunden.	Pro Kgr. und Minute.
CO_2-Production . . .	71,75 l.	14,04 cbcm.
O_2-Verbrauch . . .	72,62 l.	14,21 cbcm.

Respiratorischer Quotient: 0,988.

3. Versuch am Hunde.

	Zeit und Dauer.	Gewicht des Hundes.	Temperatur in der Glocke.	Barometerstand (corrigirt).	CO_2-Bestimmung. Menge der Kalilauge und Procentgehalt an CO_2.	CO_2-Bestimmung. Menge der CO_2 in der Kalilauge.	CO_2-Gehalt der Luft des Apparates. in 1 l.	CO_2-Gehalt der Luft des Apparates. in 11 l.	O_2-Bestimmung. O_2-Gehalt der Luft des Apparates. Reduc. Luftvolum mit % O_2.	O_2-Gehalt der Luft des Apparates. Menge des O_2.	Menge des zugeleiteten O_2.
Zu Beginn des Versuches:	31. I. 94 2.40 Uhr Nachm.	3,57 Kgr.	14° C.	741 mm.	400 cbcm. mit 0,6288 % CO_2.	2,515 gr.	0,9 cbcm.	0,01 l.	11,65 l. mit 20,91 % O_2.	2,456 l.	6,276 l. mit 94.5 % O_2 $=\frac{6.276 . 94,5 (741,1-12,6)}{760 . 100(1+0,003665 . 15)}=$
Am Schluss des Versuches:	31. I. 94. 4.51 Uhr Nachm.	3,56 Kgr.	12° C.	741 mm.	405 cbcm. mit 3,325 % CO_2.	13,465 gr.	24,0 cbcm.	0,264 l.	11,65 l. mit 13,6 % O_2.	1,612 l.	
Dauer 2 Stunden 11 Min.					Zunahme an 10,95 gr. CO_2: = 5,57 l. + 0,253 l. = 5,823 l. CO_2.				Verbrauch an O_2: 0,844 l. + 5,39 l. O_2. = 6,234 l. O_2.		

	In 24 Stunden.	Pro Kgr. und Minute.
CO_2-Production . . .	64,01 l.	12,47 cbcm.
O_2-Verbrauch	68,53 l.	13,35 cbcm.

Respiratorischer Quotient: 0,9341.

4. Versuch am Hunde.

	Zeit und Dauer.	Gewicht des Hundes.	Temperatur in der Glocke.	Barometerstand (corrigirt).	CO_2-Bestimmung.				O_2-Bestimmung.		
					Menge der Kalilauge und Procentgehalt an CO_2.	Menge der CO_2 in der Kalilauge.	CO_2-Gehalt der Luft des Apparates.		O_2-Gehalt der Luft des Apparates.		Menge des zugeleiteten O_2.
							in 1 l.	in 11 l.	Reduc. Luftvolum mit % O_2.	Menge des O_2.	
Zu Beginn des Versuches:	31. I. 94 5.17 Uhr Nachm.	3,56 Kgr.	14° C.	741 mm.	400 cbcm. mit 0,6288 % CO_2.	2,515 gr.	0,9 cbcm.	0,01 l.	11,63 l. mit 20,91 % O_2.	2,456 l.	5,7 l. mit 94,5 % O_2. $= \frac{5{,}7 . 94{,}5\ (742{,}0 - 12{,}6)}{100 . 760 (1 + 0{,}003665 . 15)} =$
Am Schluss des Versuches:	31. I. 94 7.17 Uhr Abends.	3,55 Kgr.	14° C.	743 mm.	402 cbcm. mit 3,057 % CO_2.	12,29 gr.	19,3 cbcm.	0,212 l.	11,65 l. mit 13,5 % O_2.	1,587 l.	

Dauer: 2 Stunden.

Zunahme an 9,775 gr.

CO_2: = 4,972 l. + 0,202 l. = 5,174 l. CO_2.

Verbrauch an O_2: 0,869 l. + 4,9 l. O_2 = 5,769 l. O_2.

	In 24 Stunden.	Pro Kgr. und Minute.
CO_2-Production . . .	62,088 l.	12,13 cbcm.
O_2-Verbrauch . . .	69,228 l.	13,52 cbcm.

Respiratorischer Quotient: 0,8968.

5. Versuch am Hunde.

	Zeit und Dauer.	Gewicht des Hundes.	Temperatur in der Glocke.	Barometerstand (corrigirt).	CO_2-Bestimmung. Menge der Kalilauge und Procentgehalt an CO_2.	Menge der CO_2 in der Kalilauge.	CO_2-Gehalt der Luft des Apparates. in 1 l.	in 11 l.	O_2-Bestimmung. O_2-Gehalt der Luft des Apparates. Reduc. Luftvolum mit % O_2.	Menge des O_2.	Menge des zugeleiteten O_2.
Zu Beginn des Versuches:	3. II. 94 2.33 Uhr Nachm.	2,95 Kgr.	13,5° C.	756,9 mm.	400 cbcm. mit 0,6288 % CO_2.	2,513 gr.	0,9 cbcm.	0,01 l.	11,9 l. mit 20,91 % O_2.	2,52	2,2092 l. mit 94,5 % O_2 $= \frac{2{,}2092 . 94{,}5 (756{,}9 - 12{,}6)}{100 . 760 (1 + 0{,}003665 . 15)} =$
Am Schluss des Versuches:	3. II. 94 4.28 Uhr Nachm.	2,945 Kgr.	12,5° C.	756,9 mm.	404 cbcm. mit 1,98 % CO_2.	8,00 gr.	11,8 cbcm.	0,13 l.	11,9 l. mit 13,8 % O_2.	1,7	
Dauer 1 Stunde 55 Min.					Zunahme an 5,487 gr. CO_2: = 2,79 l. + 0,12 l. = 2,91 l. CO_2.				Verbrauch an O_2: 0,82 l. + 1,94 l. O_2 = 2,76 l. O_2.		

	In 24 Stunden.	Pro Kgr. und Minute.
CO_2-Production . . .	36,66 l.	8622 cbcm.
O_2-Verbrauch	34,764 l.	8,506 cbcm.

Respiratorischer Quotient: 1,05.

6. Versuch am Hunde.

	Zeit und Dauer.	Gewicht des Hundes.	Temperatur in der Glocke.	Barometerstand (corrigirt).	CO_2-Bestimmung.				O_2-Bestimmung.		
					Menge der Kalilauge und Procentgehalt an CO_2.	Menge der CO_2 in der Kalilauge.	CO_2-Gehalt der Luft des Apparates.		O_2-Gehalt der Luft des Apparates.		Menge des zugeleiteten O_2.
							in 1 l.	in 11 l.	Reduc. Luftvolum mit % O_2.	Menge des O_2.	
Zu Beginn des Versuches:	3. II. 94 5.12 Uhr Nachm.	2,95 Kgr.	13,2° C.	754,8 mm.	400 cbcm. mit 0,6288 % CO_2.	2,515 gr.	0,9 cbcm.	0,01 l.	11,9 l. mit 20,91 % O_2.	2,515 l.	3,324 l. mit 94,5 % O_2 $= \frac{3{,}324 . 94{,}5\,(754{,}9 - 12{,}6)}{100 . 760\,(1 + 0{,}003665 . 15)} =$
Am Schluss des Versuches:	3. II. 94 6.43 Uhr Nachm.	2,88 Kgr.	12,5° C.	754,8 mm.	402 cbcm. mit 2,012 % CO_2.	8,089 gr.	50,0 cbcm.	0,55 l.	11,9 l. mit 10,7 % O_2.	1,29 l.	

Dauer: 1 Stunde 31 Min.

Zunahme an 5,574 gr.

CO_2: $= \underbrace{2{,}838 \text{ l.} + 0{,}54 \text{ l.}}_{3{,}378 \text{ l. } CO_2}$

Verbrauch an O_2: $\underbrace{1{,}227 \text{ l.} + 2{,}906 \text{ l. } O_2}_{4{,}133 \text{ l. } O_2}$.

	In 24 Stunden.	Pro Kgr. und Minute.
CO_2-Production . . .	53,444 l.	12,61 cbcm.
O_2-Verbrauch . . .	65,405 l.	15,41 cbcm.

Respiratorischer Quotient: 0,82.

7. Versuch am Hunde.

	Zeit und Dauer.	Gewicht des Hundes.	Temperatur in der Glocke.	Barometerstand (corrigirt).	CO_2-Bestimmung. Menge der Kalilauge und Procentgehalt an CO_2.	Menge der CO_2 in der Kalilauge.	CO_2-Gehalt der Luft des Apparates. in 1 l.	in 11 l.	O_2-Bestimmung. O_2-Gehalt der Luft des Apparates. Reduc. Luftvolum mit % O_2	Menge des O_2.	Menge des zugeleiteten O_2.
Zu Beginn des Versuches:	4. II. 94 3.30 Uhr Nachm.	3,19 Kgr.	13° C.	762,7 mm.	400 cbcm. mit 0,6288 % CO_2.	2,515 gr.	0,9 cbcm.	0,01 l.	12,2 l. mit 20,91 % O_2.	2,54 l.	4,184 l. mit 94,5 % O_2 $= \frac{4{,}184 . 94{,}5\,(762{,}8-12{,}6)}{100 . 760\,(1+0{,}003665 . 15)} =$
Am Schluss des Versuches:	4. II. 94 5.30 Uhr Nachm.	3,19 Kgr.	13° C.	762,7 mm.	405 cbcm. mit 2,675 % CO_2.	10,835 gr.	18,7 cbcm.	0,208 l.	12,2 l. mit 10,85 % O_2.	1,318 l.	

Dauer: 2 Stunden.

Zunahme an 8,32 gr.
CO_2: = 4,231 l. + 0,198 l. = 4,429 l. CO_2.

Verbrauch an O_2: 1,222 l. + 3,703 l. O_2 = 4,925 l. O_2.

	In 24 Stunden.	Pro Kgr. und Minute.
CO_2-Production . . .	53,148 l.	11,57 cbcm.
O_2-Verbrauch . . .	59,1 l.	12,87 cbcm.

Respiratorischer Quotient: 0,8993.

8. Versuch am Hunde.

	Zeit und Dauer.	Gewicht des Hundes.	Temperatur in der Glocke.	Barometerstand (corrigirt).	CO_2-Bestimmung. Menge der Kalilauge und Procentgehalt an CO_2.	Menge der CO_2 in der Kalilauge.	CO_2-Gehalt der Luft des Apparates. in 1 l.	in 11 l.	O_2-Bestimmung. O_2-Gehalt der Luft des Apparates. Reduc. Luftvolum mit % O_2.	Menge des O_2.	Menge des zugeleiteten O_2.
Zu Beginn des Versuches:	4. II. 94 6.20 Uhr Abends.	3,19 Kgr.	13° C.	762,6 mm.	400 cbcm. mit 0,6288 % CO_2.	2,515 gr.	0,9 cbcm.	0,01 l.	12,2 l. mit 20,91 % O_2.	2,545 l.	5,276 l. mit 94,5 % O_2. $= \frac{5,276 . 945 (762,6-12,4)}{100 . 760 (1 + 0,003665 . 15)} =$
Am Schluss des Versuches:	4. II. 94 8.17 Uhr Abends.	3,185 Kgr.	13° C.	762,6 mm.	405 cbcm. mit 2,715 % CO_2.	11,0 gr.	18,6 cbcm.	0,208 l.	12,2 l. mit 15,2 % O_2.	1,845 l.	
Dauer: 1 Stunde 57 Min.					Zunahme an 8,485 gr. CO_2: = 4,32 l. + 0,198 l. = 4,518 l. CO_2.				Verbrauch an O_2: 0,7 l. + 4,665 l. O_2. = 5,365 l. O_2.		

	In 24 Stunden.	Pro Kgr. und Minute.
CO_2-Production . . .	55,408 l.	12,1 cbcm.
O_0-Verbrauch . . .	65,909 l.	14,35 cbcm.

Respiratorischer Quotient: 0,843.

9. Versuch am Hunde.

	Zeit und Dauer.	Gewicht des Hundes.	Temperatur in der Glocke.	Barometerstand (corrigirt).	CO_2-Bestimmung.				O_2-Bestimmung.		
					Menge der Kalilauge und Procentgehalt an CO_2.	Menge der CO_2 in der Kalilauge.	CO_2-Gehalt der Luft des Apparates.		O_2-Gehalt der Luft des Apparates.		Menge des zugetheilten O_2.
							in 1 l.	in 11 l.	Reduc. Luftvolum mit % O_2.	Menge des O_2.	
Zu Beginn des Versuches:	5. II. 94 6.15 Uhr Nachm.	3,19 Kgr.	14° C.	761,8 mm.	400 cbcm. mit 0,6288 % CO_2.	2,515 gr.	0,9 mm.	0,01 l.	12,2 l. mit 20,01 % O_2.	2,529 l.	4,184 l. mit 94,5 % O_2 $= \frac{4,184 . 94,5 (716,8 - 12,6)}{100 . 760 (1 + 0,003665 . 15)} =$
Am Schluss des Versuches:	5. II. 94 8.19 Uhr Abends.	3,19 Kgr.	13° C.	761,8 mm.	406 cbcm. mit 2,9382 % CO_2.	11,93 gr.	21,6 mm.	0,2385 l.	12,2 l. mit 12,1 % O_2.	1,468 l.	
Dauer: 2 Stunden 4 Min.					Zunahme an 9,415 gr. CO_2: = 4,789 l. + 0,2285 l. = 5,0175 l. CO_2.				Verbrauch an O_2: 1,061 l. + 3,695 l. O_2. = 4,756 l. O_2.		

	In 24 Stunden.	Pro Kgr. und Minute.
CO_2-Production . . .	59,616 l.	12,68 cbcm.
O_2-Verbrauch . . .	55,2384 l.	12,03 cbcm.

Respiratorischer Quotient: 1,054.

Beiträge zur titrimetrischen Bestimmung der Magenacidität nach Dr. G. Toepfer.

Von

P. Mohr.

(Aus dem thierchemischen Institut der Universität Breslau.)

(Der Redaction zugegangen am 9. Juni 1894.)

Dr. Gustav Toepfer veröffentlichte in der Zeitschrift für physiologische Chemie[1]) eine Methode zur titrimetrischen Bestimmung der hauptsächlichsten Factoren der Magenacidität. Bei der Bedeutung dieser Methode für die medicinische Wissenschaft habe ich auf Veranlassung von Herrn Prof. Dr. Weiske mich eingehender mit derselben beschäftigt und theile meine Erfahrungen in Folgendem mit.

Was die Indicatoren anbelangt, deren sich der Verfasser bei der Titration der einzelnen Säurefactoren bedient, so gehört zum Erkennen des Ueberganges aus der Roth- in die Violettfärbung bei Anwendung des Alizarins einige Uebung.

Bei der Anwendung des Dimethylamidoazobenzols, das bei Anwesenheit von freier Salzsäure Rothfärbung giebt, nicht aber auf organische Säuren reagirt, wenn Eiweisskörper, Pepton oder Mucin zugegen sind, erscheint es geboten, nur gerade bis zum Verschwinden der Rothfärbung zu titriren, da man sonst zu hohe Resultate für freie Salzsäure erhält.

[1]) Bd. XIX, S. 104.

Verdünnte organische Säuren geben nämlich mit Dimethylamidoazobenzol nicht ausgesprochene Rothfärbung, wohl aber eine gelbrothe Färbung, die erst bei einem grösseren Gehalt an Eiweiss in die Gelbfärbung umschlägt, die Dimethylamidoazobenzol mit destillirtem Wasser giebt.

Bei der Bestimmung der Gesammtacidität mit Phenolphtalëin als Indicator muss man, wie der Verfasser angibt, solange Natronlauge zufliessen lassen, bis der einfallende Tropfen keine weitere Rothfärbung verursacht.

Die Methode, die erst, nachdem sich das Auge an den Farbenumschlag gewöhnt hat, gute Resultate giebt und sich schnell und leicht ausführen lässt, dürfte auch von dem Mediciner bei einiger Uebung benützt werden können.

Für die Methode sprechen die Resultate einiger Versuche, die ich analog den Versuchen von Toepfer ausgeführt habe:

I. Versuch.

10 cbcm. einer circa 1 proc. Essigsäure.
10 » » » 1 proc. Milchsäure.
80 » destill. Wasser.

Von dieser Mischung wurden je 5 cbcm. mit $^1/_{10}$ Normal-Natronlauge titrirt:

mit Phenolphtalëin = 1,4 cbcm. $^1/_{10}$ N-NaOH.
mit Alizarin = 1,4 » $^1/_{10}$ N-NaOH.

Differenz = 0.

II. Versuch.

5 cbcm. obiger Mischung.
5 » einer 2 proc. Eiweisslösung.
1 cbcm. $^1/_{10}$ N-HCl wurden titrirt:

mit Phenolphtalëin = 2,4 cbcm. $^1/_{10}$ N-NaOH.
mit Alizarin = 2,0 » $^1/_{10}$ N-NaOH.

Differenz = 0,4 cbcm. $^1/_{10}$ N-NaOH,

d. i. 0,00146 locker gebundene Salzsäure
mit Dimethylamidoazobenzol = 0,7 cbcm. $^1/_{10}$ N-NaON,
d. i. 0,002555 gr. freie Salzsäure,
d. i. zusammen 0,00401 gr. Salzsäure.
Der Gehalt der Lösung an Salzsäure betrug 0,00365 gr.

III. Versuch.

10 cbcm. $^1/_{10}$ Normal-Salzsäure.
10 » einer circa 1proc. Essigsäure.
10 » » » 1proc. Milchsäure.
23 » » 2proc. Eiweisslösung.
47 » dest. Wasser.

Von dieser Mischung wurden je 5 cbcm., die 0,001825 gr. HCl enthalten, titrirt:

mit Phenolphtalëin = 1,90 cbcm. $^1/_{10}$ N.-Na OH.
mit Alizarin = 1,85 » $^1/_{10}$ N.-Na OH.

Differenz = 0.05 cbcm. $^1/_{10}$ N.-Na OH.

d. i. 0,0001825 gr. locker gebundene HCl
mit Dimethylamidoazobenzol = 0,55 cbcm. $^1/_{10}$ N.-Na OH,
d. i. 0,0020075 gr. freie Salzsäure,
also zusammen 0,00219 gr. Salzsäure.
Der Gehalt an HCl betrug 0,001825 gr.

Im Anschluss hieran wurde die Acidität des Mageninhaltes von Kaninchen bestimmt.

Die Thiere wurden zu diesem Ende mit einer bestimmten, gewogenen Menge Hafer mehrere Tage hindurch gefüttert und zu verschiedenen Zeiten getödtet. Der Magen wurde sofort nach dem Tödten aus dem Leibe der Thiere entfernt und der Inhalt desselben, da er eine dicke breiige Masse vorstellte und so zur Untersuchung nicht verwendet werden konnte, in einem Maasscylinder mit destillirtem Wasser bis zu einer bestimmten Marke aufgefüllt. Von dem klaren Filtrat wurden dann 5 cbcm. zu jeder Bestimmung benutzt.

	Gesammtsäure (in Salzsäure ausgedrückt).	Freie HCl.	Locker gebundene Salzsäure.	Organische Säuren und saure Salze
Kaninchen I, unmittelbar nach erfolgter Futteraufnahme getödtet. Mageninhalt auf 500 cbcm. aufgefüllt.	0,4117 gr.	0,1745 gr.	0,0628 gr.	0,1744 gr.

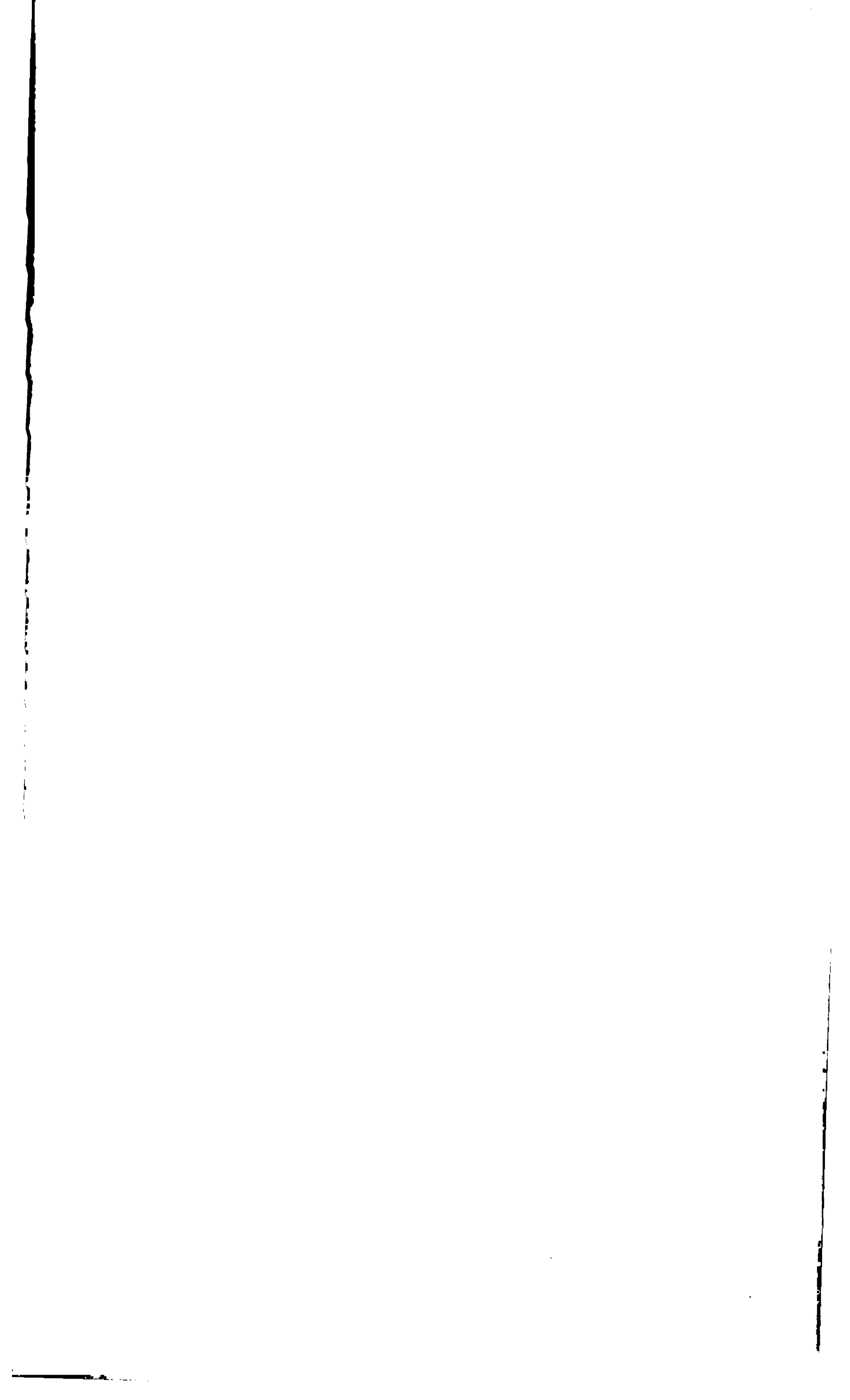
	Gesammt-säure.	Freie H Cl	Locker gebundene Salzsäure.	Organische Säuren und saure Salze.
Kaninchen II, 3 Stunden nach erfolgter Nahrungs - Aufnahme getödtet. Mageninhalt auf 450 cbcm. aufgefüllt.	0,3006 gr.	0,1361 gr.	0,0471 gr.	0,1171 gr.
Kaninchen III. 3 Stunden nach erfolgter Nahrungs - Aufnahme getödtet. Mageninhalt auf 450 cbcm. aufgefüllt.	0,2980 gr.	0,1882 gr.	0,0470 gr.	0,0628 gr.
Kaninchen IV, 24 Stunden nach erfolgter Nahrungs - Aufnahme getödtet. Mageninhalt auf 400 cbcm. aufgefüllt.	0,2702 gr.	0,1991 gr.	0,0142 gr.	0,0568 gr.
Kaninchen V, 48 Stunden nach erfolgter Nahrungs - Aufnahme getödtet. Mageninhalt auf 400 cbcm. aufgefüllt.	0,2124 gr.	0,1247 gr.	0,0283 gr.	0,0567 gr.
Kaninchen VI, nach 60 Stunden verendet. Mageninhalt auf 350 cbcm. aufgefüllt.	0,1620 gr.	0,0997 gr.	0.0374 gr.	0,0249 gr.

Um dem Einwande zu begegnen, bei vorliegenden Untersuchungen mit zu verdünnten Lösungen gearbeitet zu haben, habe ich noch einige Versuche angestellt, die bei noch grösserer Verdünnung der Lösung ebenfalls sehr befriedigende Resultate ergeben haben.

---

v D





S1.

FOR REFERENCE

NOT TO BE TAKEN FROM THE ROOM

BRO DART CAT. NO. 23 012 PRINTED IN U.S.A.



395